

Aus der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
(Direktor: Prof. Dr. med. N. Maass)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**DIE WERTIGKEIT VON
MAKROPHAGEN KOLONIE-STIMULIERENDEM FAKTOR
IM RAHMEN DES ERSTTRIMESTERSCREENINGS
IN DER SCHWANGERSCHAFT**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

CHRISTINA WILKE

aus Hamburg

Kiel 2015



1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Christel Eckmann-Scholz,
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe

2. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Schrappe,
Klinik für Allgemeine Pädiatrie

Tag der mündlichen Prüfung: 9.02.2017

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 22.09.2016

gez.: Prof. Dr. Edmund Maser
(Vorsitzender der Prüfungskommission)

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Tabellenverzeichnis.....	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Zytokine.....	1
1.1.1 Allgemeines über Zytokine	1
1.1.2 Zytokine in der Schwangerschaft.....	1
1.2 M-CSF	2
1.2.1 Das Zytokin M-CSF	2
1.2.2 Die Struktur von M-CSF	2
1.3 M-CSF Rezeptor	3
1.3.1 Signaltransduktion am M-CSF Rezeptor	4
1.4 M-CSF in der Schwangerschaft	5
1.4.1 Physiologische Anpassung des M-CSF Serumspiegels.....	5
1.4.2 M-CSF an der Plazenta	5
1.4.3 Implantation und Angiogenese	7
1.4.4 M-CSF bei pathologischen Schwangerschaftsverläufen	8
1.5 Das Ersttrimesterscreening	8
1.6 Studienziel.....	9
2 Material und Methoden	11
2.1 Patientinnenkollektiv.....	11
2.2 Materialgewinnung und –aufarbeitung	11
2.3 Bestimmung von M-CSF	11
2.3.1 Prinzip des Enzyme-linked Immunosorbent Assay.....	11
2.3.2 Durchführung des ELISA	12
2.4 Klinische Untersuchungen und Laborbefunde	12
2.5 Statistische Auswertung	14
3 Ergebnisse	15
3.1 Serumkonzentration von M-CSF im Ersttrimesterscreening	15
3.2 Korrelation zwischen M-CSF und mütterlichen Parametern	15

3.2.1 Parität	15
3.2.2 BMI	15
3.2.3 Nikotin	16
3.2.4 Aborte	16
3.3 M-CSF und Parameter des Ersttrimesterscreenings.....	17
3.3.1 Biochemie	17
3.3.2 Sonografie und Dopplersonografie	18
3.4 M-CSF bei pathologischem Karyotyp.....	18
3.4.1 M-CSF Konzentration bei Trisomie 21 und unterschiedlicher Parität	19
3.5 M-CSF bei auffälligem Schwangerschaftsverlauf.....	19
3.6 Korrelation von M-CSF und Geburtsparametern.....	21
3.6.1 Geburtswoche.....	21
3.6.2 Geburtsgewicht.....	22
4 Diskussion	23
4.1 M-CSF bei pathologischem Karyotyp.....	23
4.1.1 Plazentation bei Trisomie 21	24
4.1.2 Trisomie 21 und Parität.....	25
4.1.3 Immunologie der Implantation	26
4.2 M-CSF bei pathologischer Plazentafunktion	27
4.2.1 M-CSF Serumspiegel bei Schwangerschaften mit IUGR	27
4.2.2 M-CSF Serumspiegel bei Aborten	29
4.2.3 M-CSF Serumspiegel bei Frühgeburtlichkeit.....	30
4.2.4 Schlussfolgerung	31
4.3 M-CSF Serumspiegel bei Nikotinabusus.....	31
4.3.1 Pathophysiologie an der Plazenta	32
4.4 Fazit.....	33
4.5 Ausblick	33
5 Zusammenfassung.....	35
Anhang.....	VII
Literaturverzeichnis	XII
Danksagung	XVIII
Lebenslauf	XIX

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozessierung des M-CSF Transkripts modifiziert nach (20)	3
Abbildung 2: Signaltransduktion am M-CSF Rezeptor (c-fms) modifiziert nach (20)	4
Abbildung 3: Blastozystenimplantation und Trophoblasteninvasion zum Zeitpunkt der 3. bis 5. Schwangerschaftswoche modifiziert nach (50)	6
Abbildung 4: Formation des Trophoblasten zu Haftzotten und freien Zotten in der 6. bis 8. Schwangerschaftswoche modifiziert nach (50)	7
Abbildung 5: M-CSF Konzentrationen im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings, aufgegliedert nach Schwangerschaftswoche (SSW), Parität und Nikotinabusus	16
Abbildung 6: M-CSF Konzentration im Serum in Abhängigkeit von der β -hCG Konzentration im Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings (n=120)	17
Abbildung 7: M-CSF Konzentration im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des Erst-trimesterscreenings bei unauffälligem und pathologischem Karyotyp	18
Abbildung 8: Mütterliche M-CSF Serumspiegel bei Schwangerschaften mit Trisomie 21 zum Zeitpunkt von 11+3 bis 13+6 Schwangerschaftswochen unterteilt nach Parität	19
Abbildung 9: M-CSF Konzentration im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings bei auffälligem Schwangerschaftsverlauf (GDM = Gestationsdiabetes mellitus, SIH = schwangerschaftsinduzierter Hypertonus, SNA = singuläre Nabelschurarterie, IUFT = intrauteriner Fruchttod)	20
Abbildung 10: M-CSF Serumspiegel zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings in Schwangerschaften mit Geburt zum Termin, in der Schwangerschaftswoche 32+0 bis 36+6 und vor der Schwangerschaftswoche 32+0	21
Abbildung 11 Mütterliche M-CSF Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings bei Schwangerschaften mit IUGR und normal großen Kindern (AGA = Average for Gestational Age, SGA = Small for Gestational Age)	22
Abbildung 12: Differenzierungswege des Trophoblasten mit Pathophysiologie bei Trisomie 21 modifiziert nach (50)	25
Abbildung 13: M-CSF Serumspiegel in Abhängigkeit vom BMI der Mutter zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings	VIII
Abbildung 14: M-CSF in Abhängigkeit von PAPP-A im Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings	VIII
Abbildung 15: M-CSF im mütterlichen Serum in Abhängigkeit von der Scheitel-Steiß-Länge des Feten zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings	IX
Abbildung 16: M-CSF Serumspiegel in Abhängigkeit vom PI der A.uterina zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings	IX

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Typische Biochemiekonstellationen und NT-Werte bei normalem und pathologischen fetalen Karyotyp modifiziert nach (68).....	9
Tabelle 2: Auswertungstabelle.....	X

Abkürzungsverzeichnis

AGA	Average for Gestational Age
AS	Aminosäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ETS	Ersttrimesterscreening
FKDS	Farbkodierte Dopplersonografie
GDM	Gestationsdiabetes mellitus
hCG	humanes Choriongonadotropin
HLA	Human Leukocyte Antigen
hPL	humanes Plazentalaktogen
IUFT	intrauteriner Fruchttod
IUGR	intrauterine Wachstumsrestriktion
M-CSF	Makrophagen Kolonie-stimulierender Faktor
MoM	Multiple of Median
NK-Zelle	natürliche Killerzelle
NT	Nackentransparenz
PAPP-A	Pregnancy-associated Plasma Protein A
PI	Pulsatility Index
PWD	Pulsed-Wave-Doppler
SGA	Small for Gestational Age
SIH	schwangerschaftsinduzierter Hypertonus
SSL	Scheitel-Steiß-Länge

1 Einleitung

1.1 Zytokine

1.1.1 Allgemeines über Zytokine

Zytokine sind Peptide oder Glykoproteine, die von nahezu allen kernhaltigen Zellen des Körpers produziert werden können. Sie regulieren grundlegende Prozesse wie Wachstum, Differenzierung und Zellfunktion. Anders als Hormone agieren Zytokine meist interzellulär (parakrin) oder intrazellulär (autokrin) und werden nur in geringem Maße als endokrine Mediatoren in den Blutkreislauf abgegeben.

Zu den Zytokinen gehören die Wachstumsfaktoren, die hämatopoetischen Wachstumsfaktoren und die Zytokine des Immunsystems. Während die Wachstumsfaktoren das Größenwachstum, die Proliferation und Differenzierung sowie das Überleben von Körperzellen und Blutzellen regulieren, steuern die Zytokine des Immunsystems die spezifische und unspezifische Abwehrreaktion (1). Hierbei wirkt ein Zytokin nicht für sich alleine, es handelt sich vielmehr um ein Zusammenspiel mehrerer Zytokine, welche additiv, synergistisch oder antagonistisch wirken können. Zytokine können je nach Zielzelle unterschiedliche Effekte haben (Pleiotropie) (2).

Zu der ständig wachsenden Familie der Zytokine gehören die Interleukine, die Kolonie-stimulierenden Faktoren, die Tumornekrosefaktoren und Interferone, sowie die Wachstumsfaktoren (3).

1.1.2 Zytokine in der Schwangerschaft

Während der Schwangerschaft werden nahezu alle bekannten Zytokine von Plazenta und Uterus exprimiert und tragen zu Bildung und Erhalt einer erfolgreichen Schwangerschaft bei (4).

Immunologisch betrachtet ist die Plazenta ein Semi-Allotransplantat und das mütterliche Immunsystem muss während der Schwangerschaft eine physiologische Adaptation vollziehen. Diese Adaptation beinhaltet eine Verschiebung der Zytokinproduktion zu Gunsten der humoralen und zu Lasten der zellvermittelten Immunantwort. Es dominieren Th2-Zellen, deren Zytokinspektrum die Antwort der Th1-Zellen hemmt und somit den Fetus vor Abstoßung schützt (5, 6).

Zudem wird angenommen, dass Zytokine eine zentrale Rolle sowohl bei der Implantation als auch bei der Bildung und Entwicklung der Plazenta sowie dem Erhalt der Schwangerschaft spielen (4, 7, 8).

Folglich bilden Zytokine ein komplexes Kommunikationsnetzwerk an der maternal-fetalen Grenzfläche, dessen Störung zu pathologischen Schwangerschaftsverläufen führen könnte.

1.2 M-CSF

1.2.1 Das Zytokin M-CSF

Makrophagen Kolonie-stimulierender Faktor (M-CSF) ist ein hämatopoetischer Wachstumsfaktor, welcher die Proliferation und Differenzierung der Zellen der myeloiden Zellreihe sowie das Überleben der reifen zirkulierenden Monozyten und Gewebemakrophagen stimuliert (9, 10). Zudem steigert M-CSF die Effektorfunktionen dieser Zellen, wie Zytotoxizität, Phagozytose und Chemotaxis (11-13). Reife Monozyten und Makrophagen werden zur Expression von Oberflächen-Antigenen (MHC-II-Rezeptor, Fc-Rezeptor) und zur Ausschüttung verschiedener Zytokine und Mediatoren angeregt (14, 15).

Produziert wird M-CSF von Fibroblasten, Stromazellen des Knochenmarks, Endothelzellen, B- und T-Zellen, Monozyten und Makrophagen, Osteoblasten sowie von Endometrium, Deziduazellen und Trophoblasten (16).

1.2.2 Die Struktur von M-CSF

Das M-CSF kodierende Gen liegt auf dem Chromosom 1p13-p21, umfasst 21 kb und enthält 10 Exons und 9 Introns (17). Durch alternatives Spleißen der primären mRNA entstehen fünf verschiedene Transkripte (1,6 kb, 2,6 kb, 3,1 kb, 3,7 kb, 4,0 kb), aus denen durch co- und posttranslationale Modifizierungen drei reife M-CSF Isoformen generiert werden (16, 18, 19).

Am besten bekannt ist die sekretierte Form von M-CSF, welche über zwei unterschiedliche Synthesewege entsteht (Abbildung 1). Das 2,6 und das 4 kb Transkript kodieren ein Peptid, bestehend aus 554 Aminosäuren und das 3,7 kb Transkript kodiert ein 438 Aminosäuren umfassendes Peptid. Durch schneiden der M-CSF- β -Konvertase im Golgi-Apparat entsteht aus den jeweiligen Vorläuferproteinen ein lösliches, 223 Aminosäuren umfassendes Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 85 kD.

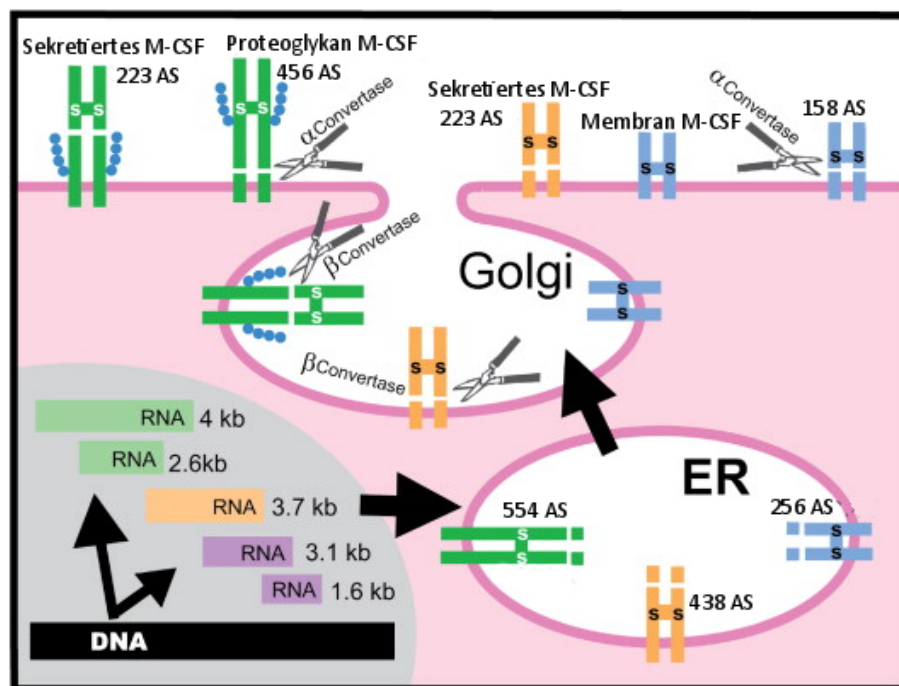


Abbildung 1: Prozessierung des M-CSF Transkripts, modifiziert nach (20)

Eine weitere lösliche Form von M-CSF existiert als Proteoglykan, welche ebenfalls aus dem 554 Aminosäuren umfassenden Peptid gebildet wird (21). Dieses ist zunächst membranständig und wird dann durch die M-CSF- α -Konvertase nahe der Zellmembran abgespalten. So entsteht ein Proteoglykan mit einem Molekulargewicht von 100-250 kD, welches als Homo- oder Heterodimer vorliegt.

Das 1,6 und das 3,1 kb Transkript kodieren ein Membran gebundenes Protein, bestehend aus 256 Aminosäuren.

In seiner biologisch aktiven Form liegt das sekretierte M-CSF als Homodimer vor und enthält drei inter- und sechs intramolekulare Disulfidbrücken. Die Grundstruktur des Moleküls besteht aus vier alpha-Helices und zwei beta-Faltblatt-Strukturen (22).

1.3 M-CSF Rezeptor

Alle Isoformen von M-CSF binden an den gleichen hoch affinen Typ III Tyrosinkinase-Rezeptor, ein Transmembranrezeptor aus der Familie der Wachstumsfaktor-Rezeptoren. Hierbei zeigen alle Formen gleiche stimulatorische Aktivität (23).

Exprimiert wird der M-CSF Rezeptor von hämatopoetischen Zellen der myeloiden Zellreihe, Osteoklasten, T-Zellen und B-Zellen (24, 25), Fibroblasten, Epithelzellen

des Ileum und Colon (26) sowie von Endometrium und Chorion und vom Synzytiotrophoblasten der Plazenta (27).

1.3.1 Signaltransduktion am M-CSF Rezeptor

Der M-CSF-Homodimer bindet an zwei M-CSF Rezeptor-Moleküle und führt somit zur kovalenten Dimerisierung des Rezeptors (Abbildung 2), wodurch dieser aktiviert wird. Es kommt zur gegenseitigen Phosphorylierung der Tyrosinkinasedomänen (Autophosphorylierung). Die so gebildeten Phosphotyrosinreste dienen als Bindungsstelle für weitere Signaltransduktionsmoleküle, die dadurch wiederum aktiviert werden (1). So werden verschiedene Signaltransduktionswege initiiert.

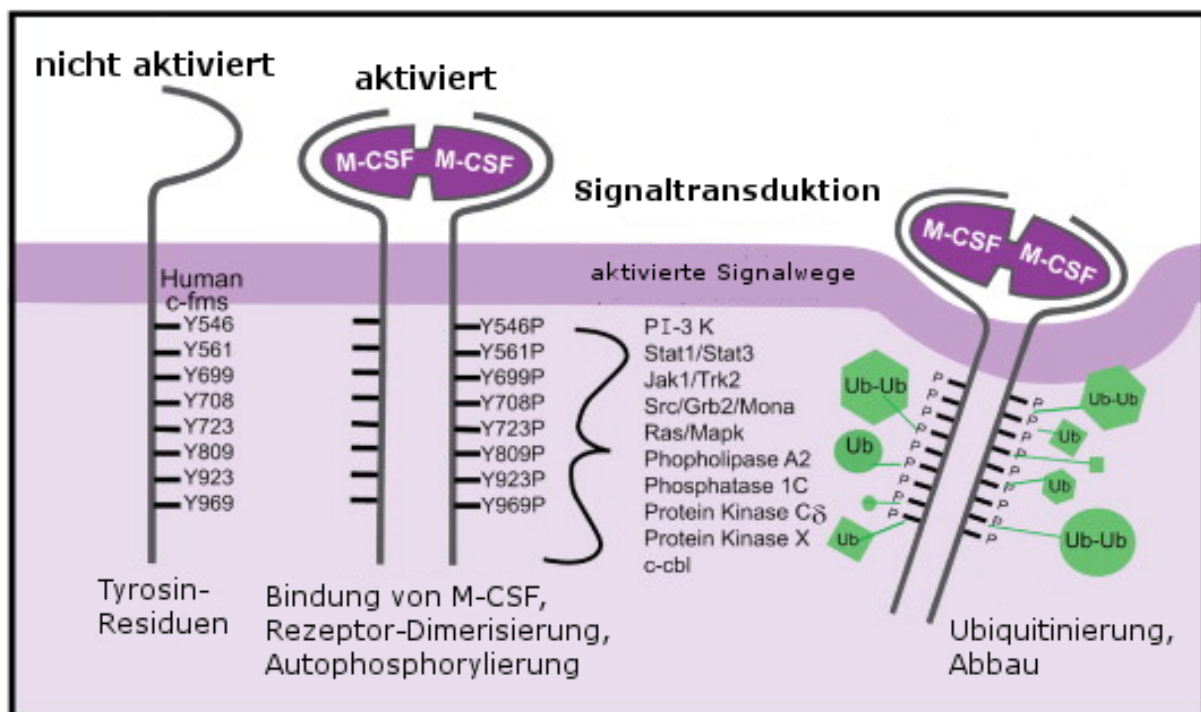


Abbildung 2: Signaltransduktion am M-CSF Rezeptor, modifiziert nach (20)

Bei der Signalübertragung am M-CSF Rezeptor spielen verschiedene Effektormoleküle eine Rolle, darunter PI3-Kinase (28), Ras (29), Raf und MAP Kinase (30), Phospholipase A2 (31) und Proteinkinase Cδ (32). Sie stimulieren Gentranskription, Translation von Proteinen sowie Umbau des Zytoskeletts (33) und führen so zu Zellwachstum und -überleben, sowie Proliferation und Differenzierung der Zielzellen.

Schließlich werden die Signaltransduktionsmoleküle ubiquitiniert und der Rezeptor wird durch Clathrin-vermittelte Endozytose aufgenommen und lysosomal abgebaut.

(Abbildung 2) (34). Der Prozess der M-CSF-Bindung bis Rezeptorentfernung läuft in etwa 12-15 Minuten ab.

1.4 M-CSF in der Schwangerschaft

1.4.1 Physiologische Anpassung des M-CSF Serumspiegels

Verschiedene Untersuchungen haben belegt, dass M-CSF eine wichtige Rolle in der Schwangerschaft spielt (35, 36).

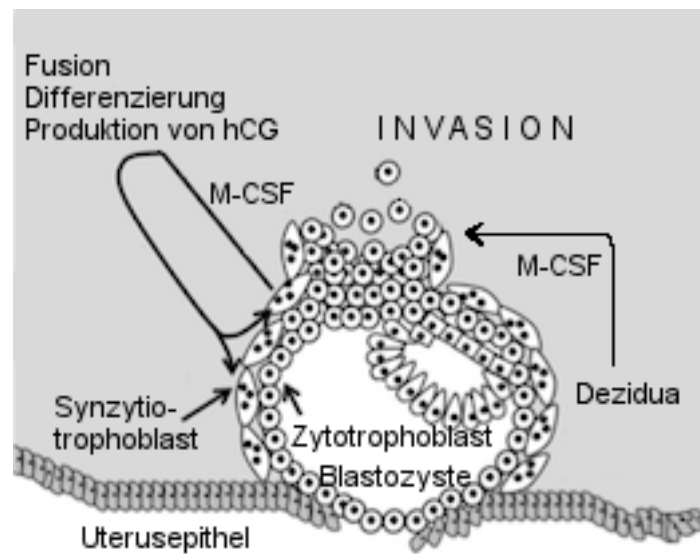
Während der Schwangerschaft ist der mütterliche M-CSF Serumspiegel erhöht (37-39). Die M-CSF Konzentration im peripheren Blut steigt mit dem Schwangerschaftsverlauf kontinuierlich an, erreicht ihren Höchstwert zum Geburtstermin und fällt nach der Geburt innerhalb von drei Wochen auf das Basislevel einer nicht schwangeren Frau ab (40-42).

Es wurde gezeigt, dass die hohe M-CSF Konzentration im peripheren Blut hauptsächlich durch Produktion von M-CSF in Plazenta und Endometrium verursacht wird (43). Die uterine und plazentare Synthese wird durch Progesteron und Östrogen induziert (38, 44), wodurch die erhöhten Serumspiegel von M-CSF in der Schwangerschaft erklärt werden könnten. Wood et al. konnten beobachten, dass der M-CSF-Spiegel nach Gabe von Östrogen und Progesteron dosisabhängig steigt (45).

1.4.2 M-CSF an der Plazenta

Die menschliche Plazenta ist ein komplexes Organ, welches während des Schwangerschaftsverlaufs eine kontinuierliche Umstrukturierung vollzieht. Seine Entwicklung beginnt mit der Implantation des Embryos und der Invasion der Trophoblasten in das dezidualisierte Endometrium. Es folgt die Phase des plazentaren Wachstums, in welcher sich Trophoblastenzotten (Primärzotten) entwickeln, bestehend aus proliferierenden Trophoblasten und differenzierten Synzytiotrophoblasten. Im Verlauf wächst zunehmend extraembryonales Mesoderm ein (Sekundärzotten) und schließlich bilden sich Kapillaren aus (Tertiärzotten). Der Reifungsprozess der Zotten und das Plazentawachstum dauern bis zum Ende der Schwangerschaft an und dienen der laufenden Anpassung an die fetalen Bedürfnisse (46).

Während der Schwangerschaft wird M-CSF von Trophoblasten, Chorion und Amnion, Deziduazellen, sowie von Immunzellen (NK-Zellen, T-Zellen) in der Dezidua produziert (16, 47) (Abbildung 3). Die größte Syntheseleistung erbringen hierbei die



Der M-CSF Rezeptor wird von plazentarem Gewebe (hauptsächlich vom Synzytiotrophoblasten und von oberflächlich liegenden Trophoblasten) sowie von Endometrium und Chorion exprimiert (27). Während des Schwangerschaftsverlaufs steigt die Rezeptor-Expression in der Plazenta kontinuierlich an. Im Endometrium ist die Expression im ersten Trimenon am höchsten, was den Schluss darauf zulässt, dass die M-CSF/Rezeptor-Interaktion eine Rolle bei der embryonalen Implantation und der Trophoblasteninvasion spielt (35, 51).

M-CSF induziert die Differenzierung des Trophoblasten zum Synzytiotrophoblasten und regt diesen dosisabhängig zur Produktion von humanem Choriongonadotropin (hCG) und humanem Plazentalaktogen (hPL) an (Abbildung 3) (52, 53).

Es wird vermutet, dass hohe lokale M-CSF Spiegel essentiell für Entwicklung und Wachstum der Plazenta sind.

1.4.3 Implantation und Angiogenese

Es werden zwei Differenzierungswege des Trophoblasten unterschieden, welche beide von entscheidender Bedeutung für die normale Plazentafunktion sind. Der extravillöse Trophoblast bildet Zellkolumnen, wandert in das Endometrium, das innere Drittel des Myometriums sowie in die Spiralarteriolen des Uterus ein und bildet so die Haftzotten. Die Invasion geht mit der Umwandlung der Spiralarteriolen des Uterus in Hochkapazitätsgefäße einher, welche den Blutfluss zu Plazenta und Fetus erhöhen und nicht länger auf vasoaktive Stimuli antworten (54). Bei inadäquater Trophoblasteninvasion ist dieser Blutfluss beeinträchtigt, was zu einer Vielzahl von pathologischen Schwangerschaftsverläufen führen kann (55).

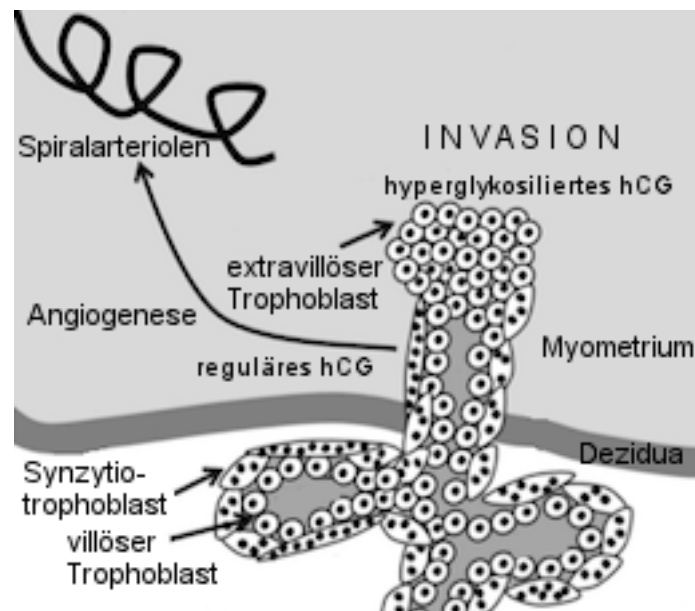


Abbildung 4: Formation des Trophoblasten zu Haftzotten und freien Zotten in der 6. bis 8. Schwangerschaftswoche, modifiziert nach (50)

Die villösen Trophoblasten der freien Zotten differenzieren und fusionieren zum Synzytiotrophoblasten, welcher die gesamten Zotten überzieht. Der Synzytiotrophoblast ist verantwortlich für den Sauerstoff- und Nährstoffaustausch zwischen Mutter und Kind sowie für die Synthese von Steroid- und Peptidhormonen (u.a. Progesteron und hCG), welche für fetales Wachstum und Entwicklung essentiell sind, und spielt somit eine wesentliche Rolle während der gesamten Schwangerschaft.

Eine wichtige Funktion hat das vom Trophoblasten gebildete hCG. In der Frühschwangerschaft sekretiert der extravillöse Trophoblast eine hyperglykosilierte Form

(56), welche autokrin und parakrin wirkt und seine Invasivität fördert (57). Reguläres hCG, welches die gesamte Schwangerschaft über vom Synzytiotrophoblasten produziert wird, stimuliert die Differenzierung von Trophoblasten zu Synzytiotrophoblasten (58) und fördert zudem die Angiogenese der Spiralarteriolen (Abbildung 4) (59, 60).

1.4.4 M-CSF bei pathologischen Schwangerschaftsverläufen

In den letzten Jahren wurden verschiedene Pathologien während der Schwangerschaft in Verbindung mit abweichenden M-CSF Serumkonzentrationen der Mutter beschrieben.

Hayashi et al. haben erhöhte M-CSF Serumspiegel bei schwangeren Frauen im zweiten und dritten Trimenon gemessen, welche im Verlauf eine Präeklampsie entwickelten (61, 62).

Erhöhte M-CSF Serumspiegel im ersten Trimenon wurden zudem bei Frühgeburtlichkeit (63) sowie bei Trisomie 21 (49) beobachtet.

Unterschiedliche Beobachtungen gibt es im Zusammenhang mit einer intrauterinen Wachstumsrestriktion (IUGR) des Kindes. Keith et al. beschrieben erhöhte M-CSF Serumspiegel im ersten Trimenon im Zusammenhang mit einem geringen Geburtsgewicht (63). Bei Hayashi und Ohkura traten erhöhte M-CSF Serumspiegel im dritten Trimenon der Schwangerschaft auf, wenn eine IUGR des Kindes vorlag (64). Zusätzlich wurden erhöhte Fruchtwasserspiegel von M-CSF festgestellt (65). Murakawa et al. haben bei IUGR jedoch erniedrigte Fruchtwasserspiegel und unveränderte Serumspiegel von M-CSF im dritten Trimenon beobachtet (66).

Erniedrigte M-CSF Serumspiegel im ersten Trimenon sowie präkonzeptionell wurden von Katano et al. bei rezidivierenden Aborten gemessen (67). Auch Piccinni et al. beschreiben einen Zusammenhang zwischen mangelhafter lokaler M-CSF Expression und Schwangerschaftsverlust (6).

1.5 Das Ersttrimesterscreening

Das Ersttrimesterscreening (ETS) ist eine Screeninguntersuchung im Rahmen der Pränataldiagnostik, welche im Zeitraum von 11+3 bis 13+6 Schwangerschaftswochen (SSW) durchgeführt wird. Es dient der nicht-invasiven Detektion von kindlichen Fehlbildungen und Aneuploidien.

Aus maternalem Alter und Gewicht, der fetalen Scheitel-Steiß-Länge (SSL), dem Nackentransparenz-(NT-)Wert, sowie den maternalen Blutwerten für freies β -hCG

und Pregnancy-associated Plasmaprotein A (PAPP-A) wird ein individuelles Risiko für das Vorliegen eines pathologischen Karyotyps errechnet. Um die biochemischen Werte vergleichen zu können, werden rechnerische Verfahren angewendet, die verschiedene Messwerte auf eine gleiche Skala beziehen. Am längsten eingeführt ist der Multiple of Median (MoM). Der MoM-Wert gibt das Vielfache des Medians eines Messwerts zum jeweiligen Schwangerschaftsalter an. Als Normbereich werden Werte von 0,5 bis 2,5 MoM angenommen.

Tabelle 1: Typische Biochemiekonstellationen und NT-Werte bei normalem und pathologischen fetalen Karyotyp modifiziert nach (68)

	NT (mm)	freies β-hCG (MoM)	PAPP-A (MoM)
Trisomie 21	↑	> 2,2	< 0,5
Trisomie 18	↑↑	< 0,3	< 0,2
Trisomie 13	↑↑	< 0,5	< 0,3
Triploidie	unauffällig	< 0,2	< 0,1

Bei Aneuploidien ist das PAPP-A erniedrigt. Das freie β -hCG ist bei Trisomie 21 erhöht und bei Trisomie 13 und 18 sowie bei Triploidien erniedrigt. Die NT-Werte sind bei Aneuploidien typischerweise erhöht, lediglich bei einer Triploidie ist dieser Wert unauffällig (Tabelle 1) (68).

Weder der NT-Wert noch die biochemischen Marker sind jedoch beweisend für eine chromosomale Aberration, typische Konstellationen geben lediglich ein erhöhtes Risiko wieder. Wird im Rahmen des ETS ein hohes Risiko für chromosomale Aberrationen festgestellt, ist eine weiterführende invasive Diagnostik empfohlen. Hierzu gehören die Amniozentese (AC) und die Chorionzottenbiopsie (CVS).

1.6 Studienziel

Im Rahmen des ETS werden periphere Blutproben der Mutter entnommen, aus deren Serum die M-CSF Konzentration bestimmt werden soll. Die gemessenen Serumspiegel sollen auf Korrelationen mit verschiedenen klinischen Daten wie mütterlichen Parametern, Dopplerbefunden, biochemischen Markern, auffälligen Ultraschallbefunden (z.B. IUGR) und Aborten untersucht werden. Ebenso sollen

pathologische Schwangerschaftsverläufe (z.B. schwangerschaftsinduzierter Hypertonus (SIH), Frühgeburt) und Erkrankungen des Kindes, im Besonderen chromosomale Aberrationen, betrachtet werden.

Ziel ist die leichtere Identifikation von Risikopatientinnen während des ETS. Bei signifikanten Korrelationen zwischen pathologischen M-CSF Serumspiegeln und Erkrankungen von Mutter oder Kind, könnte dies mit Hilfe einer M-CSF Spiegelbestimmung geschehen. Basierend auf den Testergebnissen könnten engmaschige Kontrollen und frühzeitige Therapien angeboten sowie das Outcome für Mutter und Kind verbessert werden.

2 Material und Methoden

2.1 Patientinnenkollektiv

Die vorliegende prospektive Studie, durchgeführt in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, umfasst ein Patientinnenkollektiv von 125 schwangeren Frauen, die zum ETS in der SSW 11+3 bis 13+6 in der Pränataldiagnostik vorstellig wurden. Das Alter der Patientinnen lag zwischen 17 und 44 Jahren (34 ± 6 Jahre).

Zum Untersuchungszeitpunkt stellten sich sonografisch 125 intakte Einlingschwangerschaften dar. Bei 115 Patientinnen (92 %) lag eine Dokumentation über den Schwangerschaftsausgang vor. Alle Patientinnen gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Verwendung ihrer anonymisierten klinischen Daten im Rahmen von Forschungsarbeiten. Vor Beginn der Studie wurde die Genehmigung durch die Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät der Universität Kiel eingeholt (AZ D 444/13).

2.2 Materialgewinnung und –aufarbeitung

Periphere Blutproben wurden am Tag des ETS entnommen und innerhalb von 30 Minuten weiter verarbeitet. Sie wurden für 10 Minuten bei 5°C mit 350 x g zentrifugiert. Das Serum wurde proportioniert abpipettiert, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und anschließend bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

2.3 Bestimmung von M-CSF

2.3.1 Prinzip des Enzyme-linked Immunosorbent Assay

Die M-CSF Konzentrationsbestimmung wurde mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) in Doppelbestimmung durchgeführt.

Das Prinzip basiert auf einem M-CSF spezifischen, an eine Platte gebundenen Antikörper, welcher das M-CSF (Antigen) in der Probe bindet. An diesen Antikörper-Antigen-Komplex bindet ein zweiter Antikörper, welcher mit einem Enzym gekoppelt ist. Daraufhin kommt es zur enzymatischen Umsetzung eines hinzugegebenen Farbstoffs. Mittels Messung der Extinktion kann die M-CSF Konzentration der Probe anhand einer Standardkurve errechnet werden.

2.3.2 Durchführung des ELISA

Der ELISA (*Quantikine® ELISA Human M-CSF*, R&D Systems, DMC00B) wurde nach Herstellerempfehlungen durchgeführt. Um eine M-CSF Konzentration innerhalb des Messbereichs zu erhalten, wurden die Seren mit Standardverdünnungslösung (Kalibratordiluent RD6P) fünffach verdünnt.

Vor der Verwendung wurden alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur erwärmt. In jede Vertiefung der Mikrotitrierplatten wurden 100 µl Diluent RD1-56 pipettiert und anschließend 100 µl Standard oder Serum hinzugefügt. Die Standardreihe bestand aus 7 mal 2 Standards mit Konzentrationen von 78 bis 5000 pg/ml. Danach wurde die Platte mit einer Folie abgeklebt und 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert.

Der Boden der Mikrotitrierplatten ist mit einem monoklonalen Antikörper gegen M-CSF beschichtet. Während der Inkubationszeit bindet das M-CSF aus der Probe vollständig an diesen immobilisierten Antikörper. Durch Aspiration der Proben und anschließendes 4-maliges Waschen mit 400 µl Waschpuffer wurden ungebundene Substanzen entfernt. Daraufhin wurden 200 µl eines enzymgebundenen polyklonalen Antikörpers in jede Vertiefung pipettiert, welcher spezifisch an M-CSF bindet. Nach Abkleben und weiterem zweistündigen Inkubieren bei Raumtemperatur wurde der Überstand erneut durch 4-maliges Waschen entfernt.

Danach wurden 200 µl Substrat-Lösung in jede Vertiefung gegeben und lichtgeschützt bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubiert. Die Umsetzung des Substrats wurde durch Zugabe von 50 µl Schwefellösung als Stopp-Reagenz beendet. Es konnte eine gelbliche Farbentwicklung beobachtet werden. Die optische Dichte wurde umgehend bei 450 nm gemessen und die M-CSF Konzentration der einzelnen Proben wurde anhand einer Standardkurve bestimmt.

Der Messbereich betrug 31 bis 2000 pg/ml bei einer Sensitivität von 9 pg/ml. Die Präzision war < 3 % innerhalb eines Versuchs und < 6,5 % zwischen zwei Versuchen.

2.4 Klinische Untersuchungen und Laborbefunde

Das ETS wurde von einer zertifizierten Pränataldiagnostikerin durchgeführt und die Befunde im Schwangerschafts- und Geburtenverwaltungsprogramm *PIA Fetal Database* (General Electric, USA) dokumentiert.

Im Rahmen des ETS wurde eine ausführliche Anamnese erhoben, welche Alter, Größe, Gewicht und Ethnizität der Mutter, Nikotin- und Alkoholabusus, mütterliche und familiäre Vorerkrankungen, Medikation, Status von Gravidität und Parität, Konzeptionsmethode sowie die bisherigen Schwangerschaftskomplikationen umfasste.

Die Befunde der transabdominellen Sonografie wurden nach führenden Standards der *Fetal Medicine Foundation London* mithilfe des *Voluson E8* (General Electric, USA) erhoben. Hierzu zählten vorrangig die Beurteilung kardialer Strukturen, die Darstellung der NT, die Vermessung der SSL, sowie der Darstellung etwaiger fetaler Fehlbildungen. Die Kontrolle der uteroplazentaren Blutversorgung erfolgte mittels Pulsed-Wave-Doppler (PWD) und farbkodierter Dopplersonografie (FKDS) der maternalen Aa. uterinae.

Die Laborparameter PAPP-A und β -hCG wurden am Blutentnahmetag aus Serumproben mit dem System *Elecsys®* (Roche Diagnostics GmbH, Deutschland) quantitativ bestimmt (U/I) und zusätzlich als MoM angegeben.

Den weiteren Schwangerschaftsverlauf begleiteten Ärzte der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, insbesondere bei Patientinnen mit Auffälligkeiten in der maternalen Biochemie, im ETS diagnostizierten fetalen Fehlbildungen, vorangegangenen Schwangerschaftskomplikationen als auch bei pathologischen Schwangerschaftsverläufen wie IUGR, Oligo- oder Polyhydramnion oder SIH. Ebenso führten niedergelassene Gynäkologen regelmäßige Kontrolluntersuchungen durch. Bei auffälligem ETS wurde gegebenenfalls eine invasive Diagnostik (Karyotypisierung im Rahmen einer AC oder CVS) nach genetischer Beratung durchgeführt.

Fand die Entbindung im Universitätsklinikum Kiel statt, wurden prä- und postnatal erhobene Daten ebenfalls in der *PIA Fetal Database* gespeichert. Patientinnen, die in einer anderen Einrichtung gebären, beantworteten auf postalischem Weg einen ausführlichen Fragebogen (siehe Anhang) bezüglich des Schwangerschaftsverlaufs, der Geburt und kindlicher Parameter. Alternativ wurden diese Daten den entsprechenden Geburtsberichten entnommen, sofern die Patientinnen einer Überlassung durch ihren niedergelassenen Gynäkologen zugestimmt hatten.

2.5 Statistische Auswertung

Alle statistischen Analysen erfolgten mit dem SPSS Statistik Programm. Die Pearson Korrelation sowie die Rangkorrelation nach Spearman wurden eingesetzt, um eine Korrelation zwischen unterschiedlichen Parametern zu ermitteln. Um zwei Gruppen zu vergleichen wurden nichtparametrische Tests angewandt. Im einzelnen angewendet wurden der Mann-Whitney-U-Test bei Vergleichen zwischen ungepaarten Stichproben und der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test für gepaarte Stichproben.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3 Ergebnisse

3.1 Serumkonzentration von M-CSF im Ersttrimesterscreening

Für diese Studie wurden 125 Frauen im Rahmen des ETS untersucht. Es wurden 25 Patientinnen in der SSW 11+3 bis 11+6 gescreent, 66 Patientinnen in der SSW 12+0 bis 12+6 und 34 Patientinnen in der SSW 13+0 bis 13+6.

Der durchschnittliche M-CSF Serumspiegel der Frauen betrug 218 ± 71 pg/ml zum Zeitpunkt des ETS. Abbildung 5 zeigt die M-CSF Serumkonzentrationen in den jeweiligen SSW. In der SSW 11+3 bis 11+6 lag der M-CSF Serumspiegel bei 245 ± 84 pg/ml, in der SSW 12+0 bis 12+6 bei 207 ± 65 pg/ml und in der SSW 13+0 bis 13+6 bei 218 ± 69 pg/ml.

3.2 Korrelation zwischen M-CSF und mütterlichen Parametern

3.2.1 Parität

Das Patientinnenkollektiv umfasste 54 Nulliparae und 70 Multiparae. Bei einer Schwangerschaft war die Parität unbekannt. Die M-CSF Serumspiegel der Multiparae zeigten mit 220 ± 90 pg/ml eine größere Streuung als die der Nulliparae mit 223 ± 65 pg/ml (Abbildung 5).

3.2.2 BMI

Der BMI der Patientinnen betrug zum Zeitpunkt des ETS $25,3 \pm 4,3$ und reichte von 17,7 bis 54,6. 11 Frauen hatten einen BMI ≥ 30 . Sie hatten mit 184 ± 69 pg/ml etwas niedrigere M-CSF Serumkonzentrationen im Gegensatz zu den Frauen mit einem BMI < 25 mit 217 ± 63 pg/ml ($n = 61$) sowie mit einem BMI ≥ 25 mit 226 ± 74 pg/ml ($n = 48$). Bei 5 Frauen war der BMI zum Zeitpunkt des ETS nicht bekannt. Es gab keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem BMI der Mutter und der M-CSF Konzentration im peripheren Blut (siehe Anhang Abbildung 13).

3.2.3 Nikotin

Fünf Patientinnen rauchten während der Schwangerschaft. Bei diesen Patientinnen waren die M-CSF Konzentrationen im Serum mit 173 ± 18 pg/ml erniedrigt ($p = 0,08$, Mann-Whitney-U-Test). Bei Patientinnen ohne Nikotinabusus ($n = 119$) lagen die Serumspiegel bei 220 ± 72 pg/ml (Abbildung 5). In einer Schwangerschaft lagen keine Angaben zum Nikotinabusus vor.

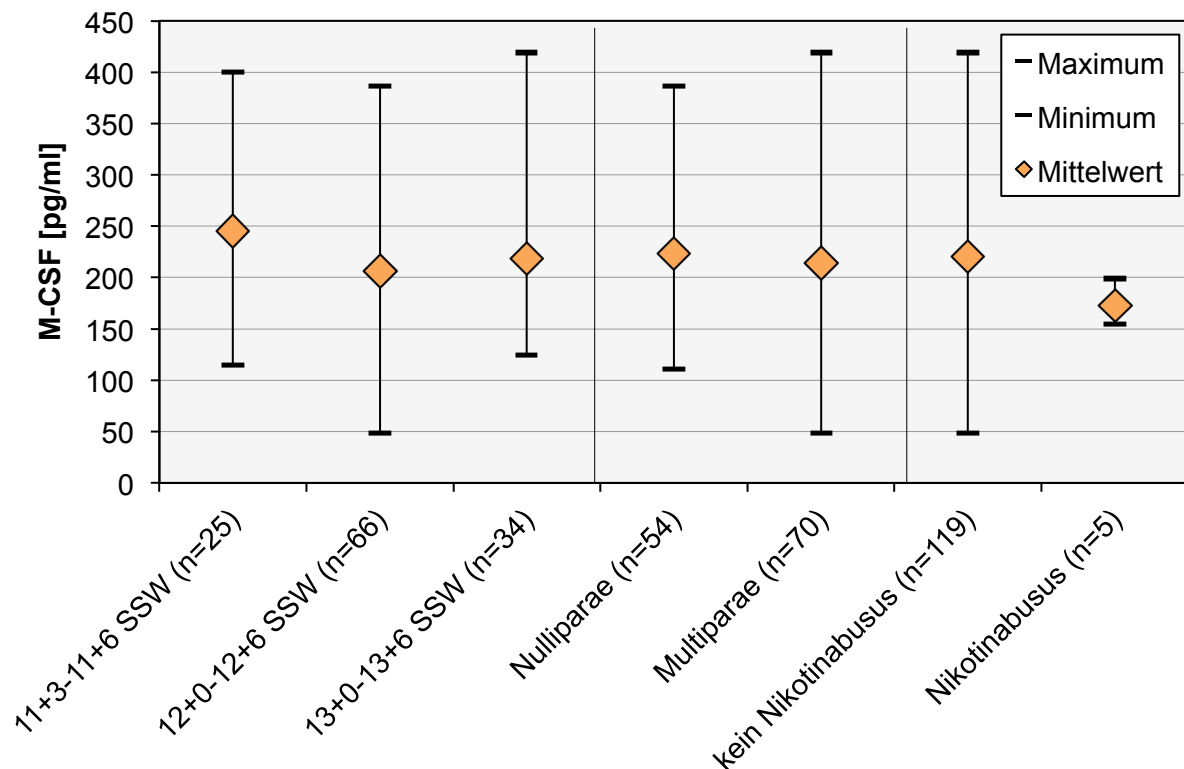


Abbildung 5: M-CSF Konzentrationen im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings, aufgegliedert nach Schwangerschaftswoche (SSW), Parität und Nikotinabusus

3.2.4 Aborte

Frauen, bei denen keine Aborte in der Anamnese bekannt waren ($n = 75$), hatten einen durchschnittlichen M-CSF Serumspiegel von 220 ± 68 pg/ml. Bei anamnestisch stattgefundenen Aborten zeigte sich eine nicht signifikante Tendenz zu niedrigeren Serumkonzentrationen von M-CSF zum Zeitpunkt des ETS. Bei einem bekannten Abort ($n = 20$) lag der M-CSF Spiegel bei 201 ± 59 pg/ml und bei zwei oder mehr Aborten in der Anamnese ($n = 8$) bei 196 ± 63 pg/ml.

Schwangerschaften mit pathologischem Karyotyp wurden von dieser Auswertung ausgeschlossen ($n = 21$). In einer Schwangerschaft lag keine Angabe zu stattgefundenen Aborten vor.

3.3 M-CSF und Parameter des Ersttrimesterscreenings

3.3.1 Biochemie

Die M-CSF-Serumspiegel wurden im Zusammenhang mit dem freien β -hCG sowie dem PAPP-A betrachtet. Zwischen M-CSF und β -hCG gab es eine signifikante positive Korrelation (Spearman Rho $r_s = 0,26$, $p = 0,003$), (Abbildung 6).

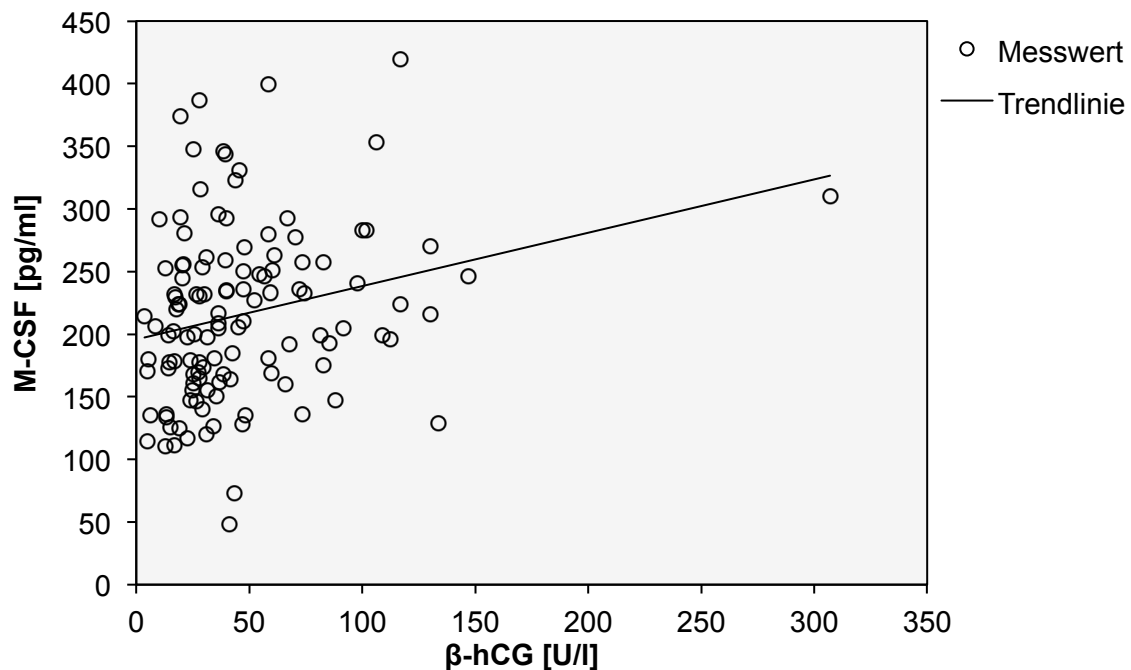


Abbildung 6: M-CSF Konzentration im Serum in Abhängigkeit von der β -hCG Konzentration im Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings ($n=120$)

Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen M-CSF und PAPP-A im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des ETS (siehe Anhang Abbildung 14). Bei fünf Schwangerschaften gab es keine Angaben zu β -hCG sowie PAPP-A.

3.3.2 Sonografie und Dopplersonografie

Betrachtet wurden das fetale Wachstum anhand der SSL sowie die fetale Blutversorgung, welche anhand des Pulsatility Index (PI) der Aa. uterinae bewertet wurde.

Es fand sich sowohl für die SSL (siehe Anhang Abbildung 15) wie auch für den PI der Aa. uterinae (siehe Anhang Abbildung 16) kein Zusammenhang mit der mütterlichen M-CSF Konzentration im Serum.

3.4 M-CSF bei pathologischem Karyotyp

Bei 21 Schwangerschaften wurden Chromosomenaberrationen gefunden. Es gab 14 Trisomie 21, zwei Trisomie 18, zwei Trisomie 13, zwei Triploidien und einmal 47,XYY. In Abbildung 7 sind die M-CSF Serumspiegel der pathologischen Karyotypen dargestellt.

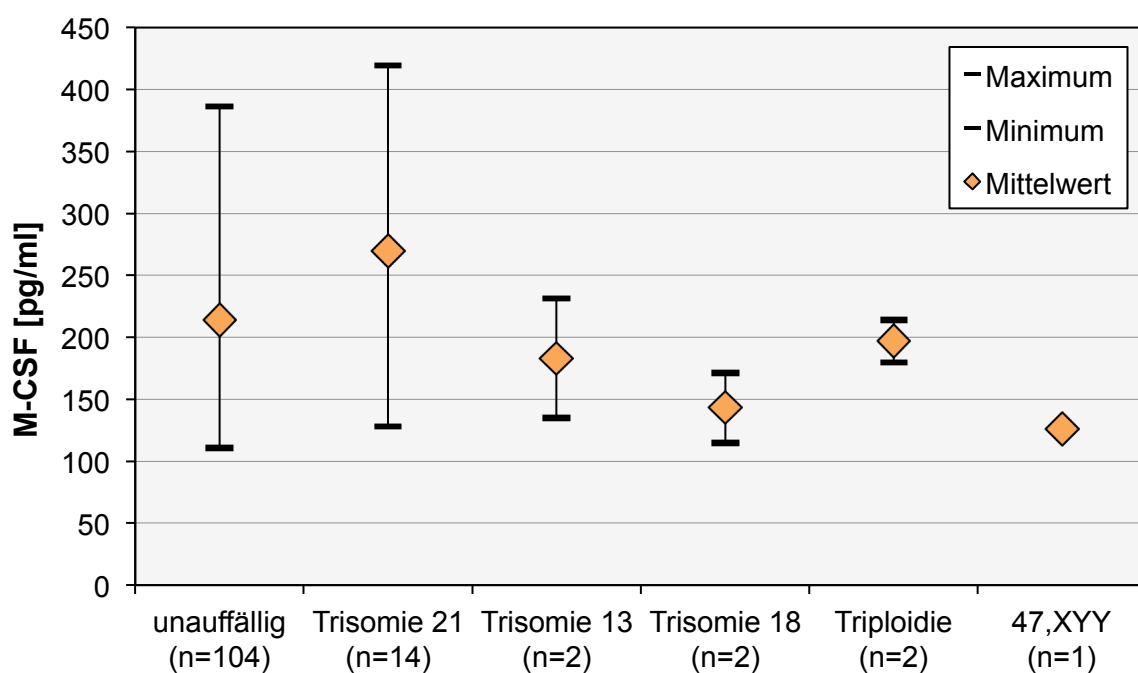


Abbildung 7: M-CSF Konzentration im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings bei unauffälligem und pathologischem Karyotyp

Die Serumkonzentration von M-CSF betrug in Schwangerschaften mit unauffälligem Karyotyp 214 ± 66 pg/ml ($n = 104$). Bei den Fällen mit Trisomie 21 war das M-CSF mit 270 ± 91 pg/ml signifikant erhöht ($p = 0,028$, Mann-Whitney U-Test), während

sich bei Trisomie 18 (143 ± 40 pg/ml) sowie bei der Trisomie 13 (183 ± 68 pg/ml) und bei 47,XYY (126 pg/ml) erniedrigte Spiegel fanden. Bei Triploidie betrug die Serumkonzentration von M-CSF 197 ± 24 pg/ml.

3.4.1 M-CSF Konzentration bei Trisomie 21 und unterschiedlicher Parität

Die M-CSF Serumkonzentrationen der Nulliparae ($n = 5$) bei Schwangerschaften mit Trisomie 21 waren mit 186 ± 44 pg/ml gegenüber den Schwangerschaften mit unauffälligem Karyotyp (215 ± 66 pg/ml) nicht erhöht, während die Multiparae ($n = 9$) mit 317 ± 74 pg/ml deutlich erhöhte Serumspiegel zeigten. In Abbildung 8 lässt sich erkennen, dass die durchschnittlichen Serumkonzentrationen von M-CSF bei Schwangerschaften mit Trisomie 21 mit zunehmender Parität anstiegen. Die β -hCG Konzentrationen bei Trisomie 21 zeigten in der SSW 11+3 bis 13+6 keine Unterschiede nach Parität (Nulliparae $80,86 \pm 40,45$ U/l, Multiparae $89,66 \pm 26,48$ U/l).

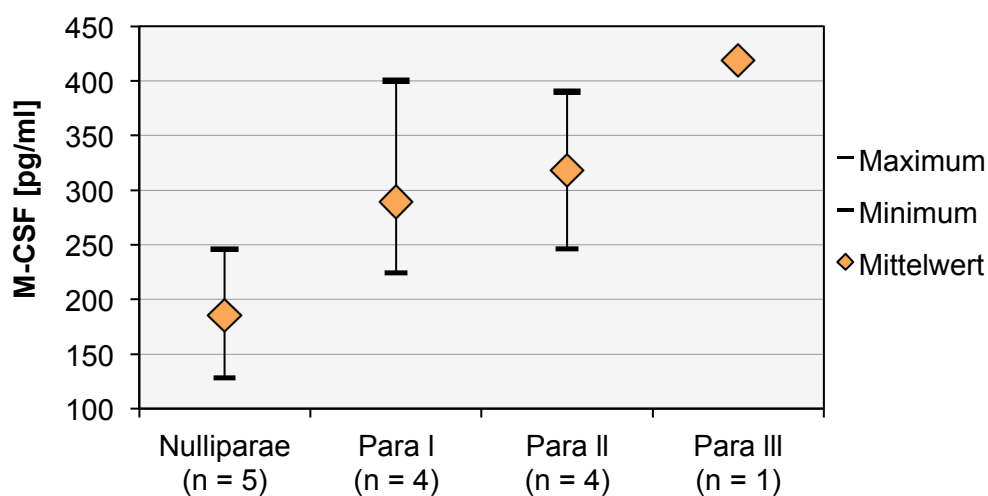


Abbildung 8: Mütterliche M-CSF Serumspiegel bei Schwangerschaften mit Trisomie 21 zum Zeitpunkt von 11+3 bis 13+6 Schwangerschaftswochen unterteilt nach Parität

3.5 M-CSF bei auffälligem Schwangerschaftsverlauf

Es konnten unterschiedliche Komplikationen während des Schwangerschaftsverlaufs beobachtet werden (Abbildung 9). In drei Schwangerschaften entwickelte sich ein Gestationsdiabetes mellitus (GDM), in zwei Fällen ein SIH und in drei Fällen lag eine

singuläre Nabelschnurarterie vor. In zwei Schwangerschaften kam es zum intrauterinen Fruchttod (IUFT), einmal in SSW 19+4 und einmal in SSW 34+1.

In 89 Fällen gestaltete sich der Schwangerschaftsverlauf unauffällig. Bei 17 Schwangerschaften wurde ein Abbruch aus medizinischer Indikation (pathologischer Karyotyp) vorgenommen, bei 10 Schwangerschaften ist der Verlauf nicht bekannt.

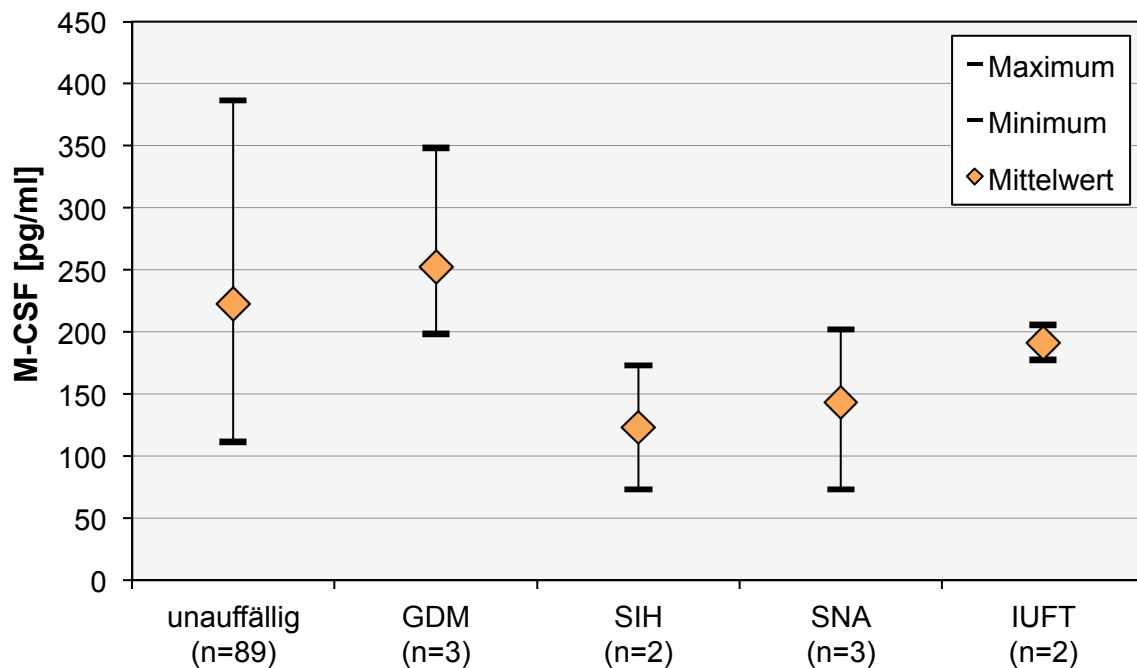


Abbildung 9: M-CSF Konzentration im mütterlichen Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings bei auffälligem Schwangerschaftsverlauf (GDM = Gestationsdiabetes mellitus, SIH = schwangerschaftsinduzierter Hypertonus, SNA = singuläre Nabelschnurarterie, IUFT = intrauteriner Fruchttod)

Die M-CSF Konzentration im Serum betrug bei Schwangerschaften mit unauffälligem Verlauf 223 ± 69 pg/ml ($n = 89$). Bei den Fällen mit GDM war das M-CSF mit 252 ± 83 pg/ml leicht erhöht. Eine Tendenz zu niedrigen M-CSF Spiegeln zeigte sich bei SIH (123 ± 71 pg/ml) sowie bei singulärer Nabelschnurarterie (143 ± 65 pg/ml) und IUFT (192 ± 20 pg/ml). In einem Fall lag eine singuläre Nabelschnurarterie zusammen mit einem SIH vor. Hier war das M-CSF mit 73 pg/ml sehr niedrig und es trat eine IUGR auf. Aufgrund der geringen Fallzahlen konnte keine statistische Auswertung erfolgen.

3.6 Korrelation von M-CSF und Geburtsparametern

3.6.1 Geburtswoche

Von den 125 bewerteten Schwangerschaften resultierten 96 in der Geburt eines Einlings, in 17 Fällen wurde ein Schwangerschaftsabbruch aus medizinischer Indikation (pathologischer Karyotyp) durchgeführt und zwei Schwangerschaften endeten in einem IUFT des Feten. Bei 10 Schwangerschaften ist der Ausgang nicht bekannt.

Aus den Geburten gingen 93 gesunde Einlinge, zwei Kinder mit Trisomie 21 und ein Kind mit hypoplastischem Linksherzsyndrom hervor. Es gab 10 Frühgeburten in der SSW 32+0 bis 36+6 und eine Geburt vor der SSW 32+0. 85 Kinder wurden zum Termin geboren (SSW 37+0 bis 42+0).

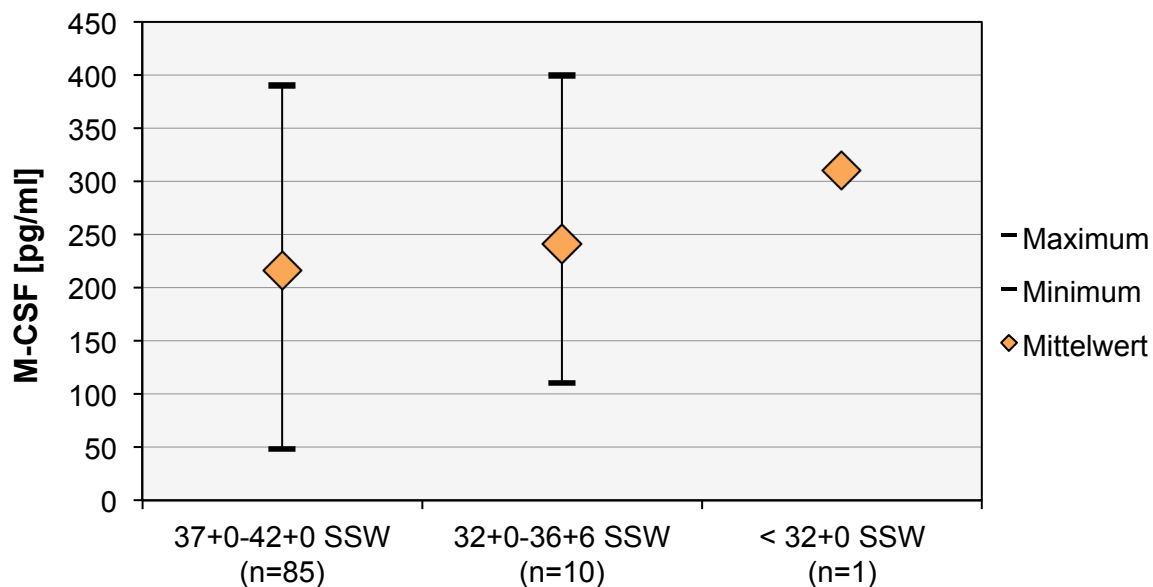


Abbildung 10: Mütterliche M-CSF Serumspiegel zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings bei Schwangerschaften mit Geburt zum Termin, in der Schwangerschaftswoche 32+0 bis 36+6 und vor der Schwangerschaftswoche 32+0

Patientinnen die ihr Kind zum Termin gebären hatten zum Zeitpunkt des ETS eine M-CSF Serumkonzentration von 216 ± 69 pg/ml. Bei Frauen, welche eine Frühgeburt in der SSW 32+0 bis 36+6 erlitten, zeigte sich mit 241 ± 95 pg/ml eine Tendenz zu höheren Serumspiegeln. Ein hoher M-CSF Wert (310 pg/ml) lag in der Schwangerschaft mit Geburt vor der SSW 32+0 vor (Abbildung 10).

3.6.2 Geburtsgewicht

Das durchschnittliche Gewicht der normal großen Kinder (AGA, Average for Gestational Age) betrug 3533 ± 445 g ($n = 84$). In 10 Schwangerschaften trat eine IUGR auf. Diese Kinder hatten ein Geburtsgewicht unter der 10. Perzentile (SGA, Small for Gestational Age) mit durchschnittlich 2662 ± 222 g. Die M-CSF Serumspiegel in Schwangerschaften mit IUGR betrugen 190 ± 74 pg/ml zum Zeitpunkt des ETS und waren damit tendenziell niedriger als die M-CSF Spiegel in Schwangerschaften mit normal großen Kindern (221 ± 72 pg/ml). Bei zwei Geburten war das Gewicht nicht bekannt.

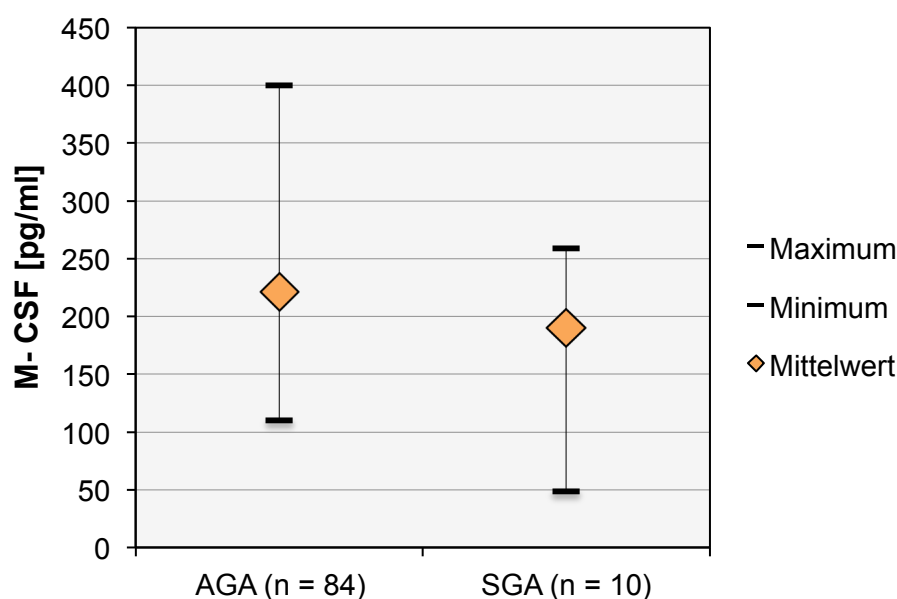


Abbildung 11: Mütterliche M-CSF Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings bei Schwangerschaften mit IUGR und normal großen Kindern (AGA = Average for Gestational Age, SGA = Small for Gestational Age)

Eindrucksvoll waren zwei Schwangerschaften mit IUGR, in denen ein extrem niedriger M-CSF Serumspiegel der Mutter gemessen wurde. In einem Fall wurde eine schwere Plazentainsuffizienz diagnostiziert (M-CSF 49 pg/ml), in der anderen Schwangerschaft lag eine singuläre Nabelschnurarterie vor und es trat ein SIH auf (M-CSF 73 pg/ml). Diese Fälle sollen im folgenden ausführlicher diskutiert werden.

4 Diskussion

M-CSF ist ein Glykoprotein, welches während der Schwangerschaft von Deziduazellen produziert wird. Dies resultiert in erhöhten Serumspiegeln gegenüber nicht-schwangeren Frauen. M-CSF fördert Plazentawachstum und –differenzierung und regt den placentaren Trophoblasten dosisabhängig zur Produktion von hCG und hPL an. Da hCG die Angiogenese der Spiralarterien unterstützt, könnten erniedrigte M-CSF Spiegel ebenfalls eine Rolle bei unzulänglicher Implantation spielen, welche zu weiteren Schwangerschaftskomplikationen wie SIH, Präeklampsie oder Aborten führen könnte (64). Es wird vermutet, dass M-CSF die Trophoblasteninvasion in das dezidualisierte Endometrium anregt und eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Schwangerschaft spielt.

Nur wenige Publikationen beschäftigen sich jedoch mit M-CSF Serumspiegeln im mütterlichen Blut während der Schwangerschaft und der größte Teil behandelt Messungen aus dem zweiten oder dritten Trimenon mit Bezug auf Präeklampsie.

In unserer Studie präsentieren wir mütterliche M-CSF Serumkonzentrationen zum Zeitpunkt des ETS zwischen der SSW 11+3 und 13+6. Diese haben wir auf Korrelationen mit auffälligen Schwangerschaftsverläufen wie Frühgeburt, IUGR oder Schwangerschaftsverlust, sowie auf chromosomale Aberrationen des Kindes untersucht. Obwohl wir eine relativ geringe Fallzahl präsentieren, haben wir einige interessante Ergebnisse ermittelt, welche für weitere Forschung von Interesse sein könnten.

4.1 M-CSF bei pathologischem Karyotyp

Ein hervorstechendes Ergebnis ist die signifikante Korrelation von erhöhten mütterlichen M-CSF Serumspiegeln zum Zeitpunkt des ETS und Schwangerschaften mit bestätigter Trisomie 21. Bei Schwangerschaften mit Trisomie 13 und Trisomie 18 wurden hingegen niedrige M-CSF Konzentrationen gemessen. Weiterhin fanden wir eine signifikante positive Korrelation zwischen M-CSF und freiem β -HCG.

Diese Thematik betreffend gibt es lediglich eine Publikation von Bersinger et al., in welcher mütterliche M-CSF Serumspiegel in Zwillingschwangerschaften mit Trisomien und normalem Karyotyp untersucht wurden. Hier wird ebenfalls eine Tendenz zu hohen M-CSF Konzentrationen zum Zeitpunkt des ETS bei einer geringen Fallzahl von Zwillingschwangerschaften mit Trisomie 21 beschrieben. In Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen, konnte weder ein signifikanter Anstieg von M-CSF von der SSW 11+3 bis 13+6, noch eine Korrelation zwischen M-CSF und PAPP-A gefunden werden (49). Es kann jedoch angenommen werden, dass eine Studie mit Zwillingschwangerschaften, besonders die hormonelle Regulation betreffend, über eine höhere Anzahl von Störfaktoren verfügt und unsere Ergebnisse aus Einlingsschwangerschaften somit präziser sind.

Im folgenden soll eine mögliche Pathogenese, welche zur Erhöhung der M-CSF Spiegel bei Trisomie 21 führt, näher erläutert werden. Aufgrund der Korrelation zwischen M-CSF und β -HCG, soll dieses Hormon ebenfalls betrachtet werden.

4.1.1 Plazentation bei Trisomie 21

Es gibt verschiedene Beobachtungen bezüglich einer abnormalen Plazentaentwicklung in Schwangerschaften mit Trisomie 21. Frendo et al. fanden eine fehlende bzw. verlangsamte Fusion von Zytotrophoblasten zu Synzytiotrophoblasten in vitro (Abbildung 12). Zusätzlich wurde eine verminderte Synthese und Sekretion von Hormonen (hCG, hPL, PGH, Leptin) beobachtet (69). Wright et al. beobachteten Abnormitäten im Differenzierungsweg, welcher zur Trophoblasteninvasion in das Myometrium führt sowie eine gesteigerte Apoptose der Trophoblasten (70). Die Plazenta in Schwangerschaften mit Trisomie 21 ist weiterhin assoziiert mit einer verzögerten Zottenreifung, verursacht durch die mangelhafte Trophoblastendifferenzierung und einer villösen Hypovaskularität (71).

Bei Trisomie 21 ist die hCG Produktion der villösen Trophoblasten der Plazenta gestört. Sie sezernieren ein hyperglykosiliertes hCG mit niedriger Bioaktivität (72). Es wird vermutet, dass posttranslationale Prozesse die Stabilität des Peptidhormons beeinflussen und so die Halbwertszeit verlängert werden könnte. Daraufhin könnte es zur Akkumulation von hCG kommen, was die erhöhten Serumspiegel bei Trisomie 21 erklären würde (69). Zusätzlich ist die trophoblastische Expression des hCG Rezeptors bei Trisomie 21 vermindert, was ebenfalls zu einer hCG Akkumulation führen könnte (73).

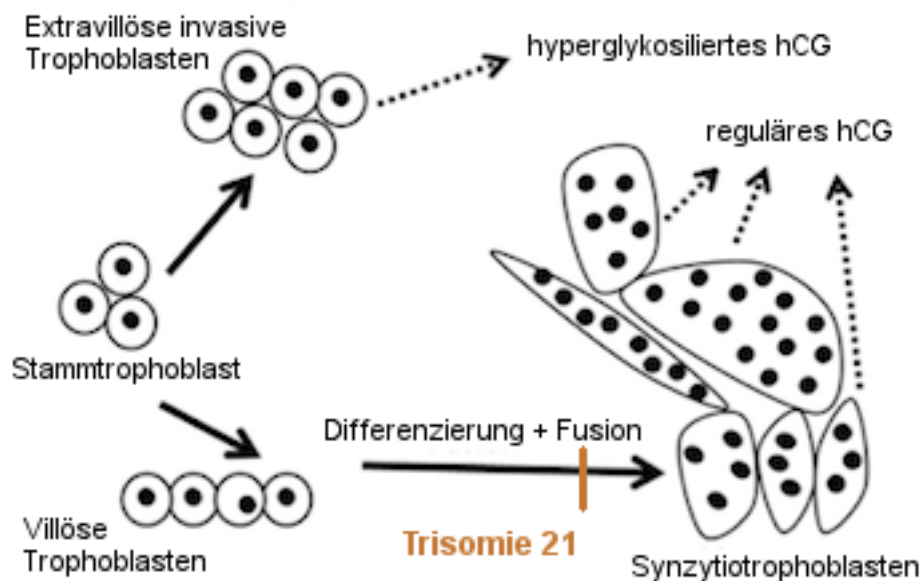


Abbildung 12: Differenzierungswege des Trophoblasten mit Pathophysiologie bei Trisomie 21, modifiziert nach (50)

M-CSF wird vom Zytotrophoblasten und der Dezidua produziert und fördert die Differenzierung des Zytotrophoblasten zum Synzytiotrophoblasten sowie dessen Hormonproduktion. Eine mögliche Erklärung für erhöhte M-CSF Serumkonzentrationen in Schwangerschaften mit Trisomie 21 wäre eine Überproduktion durch den Zytotrophoblasten und die Dezidua, um die gestörte Funktion des Synzytiotrophoblasten auszugleichen. Des Weiteren wäre das Fehlen einer negativen Rückkopplung durch die vom Synzytiotrophoblasten sekretierten Hormone oder Zytokine ein denkbarer Mechanismus.

Wie bei der Prozessierung des β -hCG könnte es ebenso beim M-CSF zu post-translationalen Modifikationen des Proteins kommen. Die genauen biochemischen Vorgänge auf zellulärer Ebene sind jedoch bislang unbekannt und bedürfen weiterer Forschung.

4.1.2 Trisomie 21 und Parität

Die M-CSF Serumspiegel der Multiparae in unserem Patientinnenkollektiv zeigten eine größere Streuung als die der Nulliparae. Bei Schwangerschaften mit Trisomie 21 konnten erhöhte Serumspiegel von M-CSF lediglich bei den Multiparae

beobachtet werden. Die Serumspiegel der Nulliparae unterschieden sich nicht von mütterlichen M-CSF Konzentrationen bei normalem Karyotyp.

Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von Keith et al. überein. Hier wurden erhöhte mütterliche M-CSF Serumkonzentrationen im ersten Trimenon bei Schwangerschaften mit auffälligem Verlauf oder ungünstigem Outcome gemessen, jedoch waren die Serumspiegel lediglich in der Gruppe der Multiparae mit ungünstigem Schwangerschafts-Outcome erhöht (63).

Diese Ergebnisse lassen an einen erlernten oder erworbenen Mechanismus denken, was eine Assoziation mit dem Immunsystem nahelegt. Keith et al. thematisieren bei ihren Beobachtungen eine Immunantwort als möglichen ursächlichen Mechanismus. Die erhöhten M-CSF Level könnten eine generalisierte Leukozytenaktivierung reflektieren. Aktivierte Leukozyten produzieren erhöhte Mengen proinflammatorischer Zytokine, u.a. IL-1, IFN-gamma, TNF-alpha und GM-CSF, welche allesamt die Synthese und Sekretion von M-CSF stimulieren (74). Diese inflammatorischen Zytokine könnten zudem zu einer generalisierten Aktivierung von Monozyten und Makrophagen beitragen, was ebenso in erhöhten M-CSF Spiegeln in der Frühschwangerschaft resultieren könnte (63).

4.1.3 Immunologie der Implantation

Aus immunologischer Sicht ist der Fetus ein Allotransplantat, die Hälfte seines genetischen Materials ist paternalen Ursprungs. Trotzdem wird der Fetus vom mütterlichen Immunsystem toleriert. Dies ist ein immunologisches Paradoxon.

Die Plazenta ist fetalen Ursprungs, separiert den mütterlichen und den fetalen Kreislauf und steht in direktem Kontakt mit mütterlichen Geweben. Es entstehen zwei Grenzflächen, welche sich immunologisch voneinander unterscheiden. Der villöse Trophoblast, welcher die freien Zotten bildet, tritt in Kontakt mit dem mütterlichen Blutkreislauf, also mit dem systemischen Immunsystem der Mutter. Er trägt das Oberflächenantigen HLA I- und ist immunologisch neutral. Der extravillöse Trophoblast, welcher die Haftzotten bildet, trägt das Oberflächenantigen HLA I+. Er ist somit zu lokalen Interaktionen mit Immunzellen fähig (75).

Der extravillöse Trophoblast invadiert die Dezidua, welche zu 50 % aus Dezidua-zellen und zu 40 % aus Immunzellen gebildet wird (76). Die Leukozytenpopulation besteht hauptsächlich aus NK-Zellen, dendritischen Zellen und Makrophagen

(20 - 25 %) (77). Makrophagen sind bedeutende Antigen-präsentierende Zellen des Uterus, welche die normale sowie abnormale Plazentation vermitteln und die Plazentaantwort auf Infektion modellieren (78).

Als Antwort auf das sie umgebende Milieu polarisieren Makrophagen zu einem M1 oder einem M2 Phänotyp. Der M1 Phänotyp eliminiert eindringende Organismen und fördert die Typ-I-Immunantwort, wohingegen der M2 Phänotyp durch Hyporeagibilität auf proinflammatorische Stimuli sowie Förderung von Angiogenese und Gewebereparatur charakterisiert ist (79). Unter Einfluss von M-CSF polarisieren Makrophagen zu einem M2 Phänotyp mit eingeschränkter Produktion proinflammatorischer Mediatoren (80). Die Stimulation unreifer Makrophagen mit M-CSF könnte somit zu einer Makrophagenpopulation führen, welche fähig wäre, Immunsuppression und –toleranz herzustellen (81). Hamilton erhebt die Hypothese, M-CSF habe eine homöostatische Funktion, welche die Förderung einer schnellen Reparatur inflammatorischer und autoimmuner Läsionen beinhalten könnte (79).

Inwieweit der pathologische Genotyp der Trophoblasten in Schwangerschaften mit Trisomie 21 bei der Interaktion mit mütterlichen Zellen eine Rolle spielt und ob eine Maladaptation des Immunsystems hierbei von Belangen ist, muss weitergehend experimentell erforscht werden. Die genauen Mechanismen auf zellulärer Ebene sind bislang unbekannt. Untersuchungen in diesem Bereich sollten mit größeren Stichproben wiederholt werden, auch da gewonnene Erkenntnisse für andere Gebiete der Medizin, wie zum Beispiel die Transplantationsmedizin, von Interesse sein könnten.

4.2 M-CSF bei pathologischer Plazentafunktion

4.2.1 M-CSF Serumspiegel bei Schwangerschaften mit IUGR

Im untersuchten Patientinnenkollektiv konnten 10 Schwangerschaftsverläufe mit Entwicklung einer IUGR beobachtet werden. Die mütterlichen M-CSF Serumspiegel in diesen Schwangerschaften zeigten eine Tendenz zu niedrigeren Werten. Besonders eindrucksvoll waren hierbei zwei Fälle von IUGR, welche mit extrem niedrigen M-CSF Serumkonzentrationen (49 pg/ml und 73 pg/ml) einher gingen.

In einem Fall (Gravida II, Para I) betrug die mütterliche Konzentration von M-CSF im Serum zum Zeitpunkt des ETS **49 pg/ml**. Das ETS fand in der SSW 12+0 statt und es wurden unauffällige Werte für PAPP-A und β -hCG bestimmt. Die linke A. uterina zeigte ein angedeutetes Notching bei unauffälligem PI. Im dritten Trimenon entwickelte die Patientin eine Plazentainsuffizienz mit IUGR und Oligohydramnion. In der SSW 39+3 gebar die Patientin ein gesundes weibliches Neugeborenes mit 2805 g Geburtsgewicht (8. Perzentile).

In zweiten Fall (Gravida II, Para I) betrug die M-CSF Serumkonzentration der Mutter **73 pg/ml**. Das ETS in der SSW 12+5 ergab ebenfalls unauffällige Werte für PAPP-A und β -hCG. Beide Aa. uterinae zeigten ein Notching mit erhöhtem PI der A. uterina rechts. Diese Patientin entwickelte im Schwangerschaftsverlauf einen SIH und es lag zudem eine singuläre Nabelschnurarterie vor. Anamnestisch war eine Endometriose bekannt, sowie eine Plazentainsuffizienz mit IUGR in einer vorangegangenen Schwangerschaft. In der SSW 37+2 gebar die Patientin ein gesundes männliches Neugeborenes mit 2550 g Geburtsgewicht (8. Perzentile).

In beiden Fällen lagen folglich zusätzliche Pathologien an der Plazenta oder Schwangerschaftserkrankungen, welche durch eine pathologische Plazentafunktion bedingt sein können, vor.

Die bisherigen Beobachtungen der mütterlichen M-CSF Spiegel bei Schwangerschaften mit IUGR sind uneinheitlich. Hayashi und Ohkura beschrieben 2002 erhöhte M-CSF Serumspiegel bei IUGR, während Murakawa et al. 1998 keinen signifikanten Unterschied der Serumspiegel von Frauen mit IUGR und Frauen mit normal großen Kindern beobachteten (64, 66). Die Messungen der M-CSF Serumkonzentrationen wurden jedoch bei beiden Untersuchungen im dritten Trimenon durchgeführt, sie stehen also nicht zwangsweise im Widerspruch zu unseren Ergebnissen.

Des Weiteren beschrieb Hayashi 2007 erhöhte Fruchtwasserspiegel von M-CSF bei Schwangerschaften mit IUGR, während Murakawa et al. erniedrigte M-CSF Spiegel im Fruchtwasser beobachteten (65). Murakawa et al. konnten zudem keine Korrelation zwischen den M-CSF Konzentrationen in Serum und Fruchtwasser feststellen, weshalb unsere Ergebnisse nicht mit den M-CSF Bestimmungen aus dem Fruchtwasser vergleichbar sind.

Fetales Wachstum beruht auf der ausreichenden Verfügbarkeit von Sauerstoff und Nährstoffen über die Plazenta, in Verbindung mit Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Dementsprechend ist eine IUGR assoziiert mit einem niedrigen Plazentagewicht (66). Brosens et al. beschrieben bereits 1972 eine pathologische, oberflächliche Plazentation bei Schwangerschaften mit IUGR und Präeklampsie (82). Diese führten sie auf eine unzureichende Trophoblasteninvasion sowie inadäquaten Umbau der Spiralarteriolen zurück.

Unsere Ergebnisse stimmen mit beschriebenen pathophysiologischen Mechanismen überein, da M-CSF eine wichtige Rolle bei der Plazentation mit Ausbildung einer suffizienten uteroplazentaren Zirkulation sowie bei der Trophoblastenentwicklung und -invasion spielt. Stark erniedrigte M-CSF Serumspiegel der Mutter während der Frühschwangerschaft könnten eine verminderte Proliferation und Differenzierung der Trophoblasten sowie der Synzytiotrophoblasten und somit eine insuffiziente Ausbildung der Plazenta zur Folge haben. Dies würde in einem schlechten Sauerstoff- und Nährstoffaustausch resultieren, was zu einer IUGR führen könnte. Ferner ist anzunehmen, dass niedrige M-CSF Spiegel zu einer verminderten Sekretion von hCG führen und die Plazentation und Angiogenese so zusätzlich beeinträchtigt werden.

4.2.2 M-CSF Serumspiegel bei Aborten

Auch bei frühem Schwangerschaftsverlust wird eine Plazentahypoxie als mögliche Ursache angenommen. Ball et al. fanden einen Zusammenhang zwischen insuffizienter Trophoblasteninvasion sowie Spiralarteriolen-Remodelling und sporadischen Aborten (83). Der Pathomechanismus welcher zu IUGR führt, könnte demnach ebenso für rezidivierende Aborte ursächlich sein.

Bei stattgefundenen Aborten in der Anamnese fanden wir eine Tendenz zu niedrigen M-CSF Serumspiegeln, welche nicht signifikant war. Jedoch stimmen unsere Ergebnisse sowohl mit der Theorie einer insuffizienten Trophoblasteninvasion und Plazentation bei niedrigen M-CSF Serumkonzentrationen, als auch mit den bisherigen veröffentlichten Untersuchungen diesbezüglich überein. Erniedrigte M-CSF Serumspiegel im ersten Trimenon sowie präkonzeptionell bei rezidivierenden Aborten wurden von Katano et al. festgestellt (67). Auch Piccinni et al. beschreiben

einen Zusammenhang zwischen mangelhafter lokaler M-CSF Expression und Schwangerschaftsverlust (6).

Diese Thematik betreffend müssten weitergehende experimentelle Untersuchungen durchgeführt werden, um die Zusammenhänge in Erfahrung zu bringen.

4.2.3 M-CSF Serumspiegel bei Frühgeburtlichkeit

Bei 10 Fällen von Frühgeburtlichkeit beobachteten wir eine Tendenz zu hohen mütterlichen Serumspiegeln von M-CSF. In einem Fall einer sehr frühen Geburt vor der SSW 32+0 war das M-CSF auffallend hoch im Vergleich zu Serumspiegeln bei Frauen, welche zum Termin gebären.

Kim et al. beschrieben 2002 eine fehlerhafte Plazentation mit unzureichendem Remodelling der Spiralarteriolen bei Schwangerschaften mit vorzeitigem Blasensprung und Frühgeburtlichkeit (84). Eine unvollständige Gefäßumwandlung ist mit einer insuffizienten oberflächlichen Invasion der Dezidua und des inneren Drittels des Myometriums assoziiert. Ursachen für eine insuffiziente Invasion kann sowohl in einer reduzierten Invasivität als auch in übersteigerter Apoptose der extravillösen Trophoblasten begründet sein (85). Eine gesteigerte Apoptose der extravillösen Trophoblasten wurde bereits mit Präeklampsie (86), IUGR (87) und Frühgeburtlichkeit (88) assoziiert.

Ursächlich für eine exzessive Apoptose von extravillösen Trophoblasten kann ein Überschuss an Makrophagen in der Dezidua sein (89). Makrophagen induzieren die Apoptose der einwandernden Trophoblasten durch die Synthese und Sekretion von TNF- α (90). M-CSF stimuliert die Proliferation und Differenzierung von Makrophagen und steigert deren Effektorfunktionen. Zudem vermittelt M-CSF die Makrophageninfiltration in die Dezidua. Wu et al. bringen hohe M-CSF Spiegel der Mutter mit einer gesteigerten Apoptose der extravillösen Trophoblasten und somit mit einer unzulänglichen Trophoblasteninvasion in Verbindung (74).

Unsere Ergebnisse stimmen demnach mit der Theorie einer unzulänglichen Trophoblasteninvasion von Wu et al. überein. Erhöhte M-CSF Serumspiegel könnten eine unzulängliche Plazentation bedingen, was in Frühgeburtlichkeit resultieren könnte.

Lediglich eine Publikation befasst sich mit mütterlichen M-CSF Serumkonzentrationen im Zusammenhang mit Frühgeburtlichkeit. Keith et al. bestimmten die M-CSF Serumspiegel von schwangeren Frauen an vier verschiedenen Zeitpunkten im Schwangerschaftsverlauf, um einen möglichen Zusammenhang mit hypertensiven Schwangerschaftserkrankungen zu untersuchen. Bei einer kleinen Fallzahl mit Frühgeburtlichkeit wurden hierbei erhöhte Serumspiegel von M-CSF während des ersten Trimenons festgestellt (63). Diese Beobachtungen stimmen mit unseren überein und bieten somit einen interessanten Ansatzpunkt für weitergehende Forschung.

4.2.4 Schlussfolgerung

Es ist bekannt, dass M-CSF eine wichtige Rolle bei der Implantation sowie bei Entwicklung und Erhalt der Plazenta spielt. Die Betrachtung unserer Ergebnisse impliziert weitergehend, dass hierbei eine bestimmte physiologische mütterliche Serumkonzentration von Vorteil ist. Sowohl zu niedrige, als auch zu hohe M-CSF Spiegel scheinen zu einer insuffizienten Plazentation mit der Folge einer pathologischen Plazentafunktion führen zu können.

Stark erniedrigte M-CSF Serumspiegel der Mutter in der Frühschwangerschaft könnten eine verminderte Proliferation und Differenzierung der Trophoblasten sowie eine herabgesetzte Invasivität dieser Zellen zur Folge haben. Zudem könnten niedrige M-CSF Spiegel zu verminderter Sekretion von hCG führen und die Plazentation und Angiogenese so zusätzlich beeinträchtigen. Hohe M-CSF Spiegel sind mit einer gesteigerten Apoptose der Trophoblasten assoziiert. In beiden Fällen könnte es demnach zu einer unzulänglichen Trophoblasteninvasion mit unvollständiger Umwandlung der Spiralarteriolen des Uterus kommen. Die hieraus resultierende plazentare Hypoxie ist mit unterschiedlichen beschriebenen Schwangerschaftserkrankungen assoziiert.

4.3 M-CSF Serumspiegel bei Nikotinabusus

Rauchen von Tabak während der Schwangerschaft ist ein bekannter Risikofaktor für unterschiedliche Komplikationen im Schwangerschaftsverlauf sowie für ein schlechtes Schwangerschafts-Outcome. Während der Frühschwangerschaft kann Nikotinabusus zu Aborten, ektopen Schwangerschaften sowie zur Ausbildung einer

Plazenta praevia oder Plazenta accreta führen. In der Spätschwangerschaft ist das Risiko für IUGR, Plazentainsuffizienz oder Plazentaablösung sowie für vorzeitigen Blasensprung und Frühgeburtlichkeit erhöht (91).

Zum Zeitpunkt des ETS zeigten Patientinnen mit Nikotinabusus tendenziell niedrigere Serumkonzentrationen von M-CSF als Patientinnen ohne Nikotinabusus. Die hormonelle Regulation wird durch Tabakkonsum beeinflusst. Nikotinabusus verändert den Östrogen-Metabolismus (92) und wurde mit niedrigen Östrogenspiegeln assoziiert (93). Bei Nikotinabusus während der Schwangerschaft weist die Plazenta weitergehend einen reduzierten Progesterongehalt auf (94). Dies könnte eine mögliche Ursache für die niedrigen M-CSF Serumkonzentrationen während der Schwangerschaft sein, da die uterine und plazentare Synthese von M-CSF durch Progesteron und Östrogen induziert wird (38, 44).

4.3.1 Pathophysiologie an der Plazenta

Nikotinabusus während der Schwangerschaft vermindert den Fluss von uterinem Blut zur Plazenta, unter anderem durch Vasokonstriktion. Hierdurch kommt es zu einer pathologischen plazentaren Hypoxie mit morphologischen Zeichen der Minderperfusion. Es wurden histopathologische Veränderungen wie verminderte Vaskularisation, Verdickung der Basalmembran und villöse Hyperplasie mit Kollagenvermehrung sowie ein reduziertes Plazentagewicht beobachtet (95, 96). Es zeigt sich zudem eine beeinträchtigte Proliferation und Differenzierung der Trophoblasten (97) sowie eine verminderte Invasivität (98). Niedrige M-CSF Spiegel während der Schwangerschaft könnten eine mögliche Ursache darstellen, welche zu beschriebenen pathologischen Veränderungen der Plazenta führen bzw. beitragen könnte.

Des Weiteren wurde bei Nikotinabusus eine Dysregulation der trophoblastischen Expression unterschiedlicher Proteine, unter anderem von Wachstumsfaktoren, nachgewiesen (99). Die erniedrigten M-CSF Serumspiegel könnten demnach ebenso in einer gestörten Expression begründet sein. Diese könnte sowohl durch den direkten Einfluss von Nikotin oder anderen toxischen Metaboliten des Tabakrauches auf den Trophoblasten, als auch durch plazentare Hypoxie hervorgerufen sein.

4.4 Fazit

Im Rahmen des ETS wurden 125 schwangere Frauen untersucht und deren M-CSF Konzentration im Serum bestimmt. Es fanden sich Korrelationen bei pathologischen Karyotypen sowie bei pathologischer Plazentafunktion. Aufgrund der relativ kleinen Stichprobe sind diese Korrelationen nur als eingeschränkt aussagekräftig zu beurteilen. Die umfassende Auswertung der klinischen Parameter der Mutter, des Schwangerschaftsverlaufes und des Outcomes, gibt jedoch einen Überblick über das Verhalten der mütterlichen Serumkonzentrationen von M-CSF während der Schwangerschaft. Es lassen sich Gebiete identifizieren, in denen gezielte tiefergehende Forschung mit größeren Stichproben sinnvoll und von Interesse ist.

Die Bestimmung der M-CSF Serumkonzentration fand einmalig, relativ früh im Schwangerschaftsverlauf, statt. Keith et al. beobachteten, dass vor allem das Maß des Anstiegs von M-CSF im Schwangerschaftsverlauf wichtig ist, um eine Vorhersage über das Outcome zu treffen (63). Ob M-CSF eher als Verlaufsparameter nutzbar ist, muss weiter erörtert werden. Auch ist der ideale, aussagekräftigste Messzeitpunkt während der Schwangerschaft bislang nicht bekannt. Die Aussagekraft biochemischer Screeningparameter variiert je nach Gestationsalter. Es ist fraglich, inwieweit aus einer einmaligen frühen Messung zum Zeitpunkt des ETS auf die weitere Entwicklung von Schwangerschaftskomplikationen und Plazentafunktion geschlossen werden kann.

Biochemische Screeningparameter, wie β -HCG und PAPP-A, werden in digitalen Analyseprogrammen anhand bekannter Einflussgrößen modifiziert. In die Risikokalkulation werden Gestationsalter, mütterliches Gewicht und Alter, Ethnizität, Nikotinabusus, Diabetes mellitus, Anzahl der Feten sowie Modus der Empfängnis einbezogen. In dieser Studie wurde M-CSF isoliert betrachtet und ausgewertet, was die Fehleranfälligkeit der Ergebnisse erhöhen könnte. Inwiefern M-CSF als Screeningparameter von diesen oder anderen Faktoren beeinflusst wird, ist bislang nicht bekannt und muss weitergehend erforscht werden, wenn es im Screening, z.B. für Chromosomenaberrationen, an Bedeutung gewinnen soll.

4.5 Ausblick

Das Screening in der Frühschwangerschaft ist wichtig zur Identifizierung von Frauen, welche ein erhöhtes Risiko für chromosomale Aberrationen oder andere Morbiditäten

des Feten aufweisen. Im Falle eines pathologischen und eventuell nicht lebensfähigen Karyotypen des Kindes könnte so gegebenenfalls ein früherer und somit komplikationsärmerer Schwangerschaftsabbruch vorgenommen werden.

Nicolaides hat jüngst angebracht, dass die neue Herausforderung für die Verbesserung des Schwangerschafts-Outcomes darin besteht, ein neues Modell des Schwangerschaftsscreenings einzuführen, welches auf den Ergebnissen einer umfassenden Begutachtung in der 11. bis 13. SSW basieren sollte (100). Die Forschung der letzten Jahre habe gezeigt, dass es möglich sei, in diesem Stadium der Schwangerschaft alle bedeutenden Komplikationen wie Aneuploidien, Präeklampsie, IUGR, Makrosomie, GDM, Frühgeburtlichkeit, Fehlgeburt, Totgeburt sowie fetale Missbildungen zu erkennen (101). Den identifizierten Frauen könnte somit eine engmaschige Überwachung sowie frühzeitige therapeutische Maßnahmen angeboten werden. M-CSF könnte in diesem Rahmen einen wertvollen neuen Screeningparameter darstellen und sollte daher weiterführend untersucht werden.

5 Zusammenfassung

Makrophagen-Kolonie stimulierender Faktor (M-CSF) ist ein 85 kD Glykoprotein, welches während der Schwangerschaft von Deziduazellen produziert wird. Dies resultiert in erhöhten Serumspiegeln gegenüber nicht-schwangeren Frauen. M-CSF fördert Plazentawachstum sowie –differenzierung und regt den placentaren Trophoblasten dosisabhängig zur Produktion von humanem Choriongonadotropin (hCG) und humanem Plazentalaktogen (hPL) an. Es wird vermutet, dass M-CSF die Trophoblasteninvasion in das dezidualisierte Endometrium anregt und eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Schwangerschaft spielt.

Bei 125 Patientinnen mit Einlingsschwangerschaften wurden im Rahmen des Ersttrimesterscreenings klinische Parameter wie Nackentransparenz und Scheitel-Steiß-Länge des Feten, dopplersonographische Werte der Aa. uterinae beidseits sowie Pregnancy-associated Plasma Protein A (PAPP-A) und freies β -hCG bestimmt. Bei auffälligen Resultaten aus der Risikokalkulation erfolgte gegebenenfalls eine invasive Diagnostik zur Karyotypisierung mit Chorionzottenbiopsie oder Amniozentese. Die M-CSF Bestimmung aus dem mütterlichen Serum wurde mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) durchgeführt. Die gemessenen Serumspiegel wurden auf Korrelationen mit den klinischen Befunden des Ersttrimesterscreenings, mütterlichen Parametern wie Gewicht, Parität und Nikotinabusus sowie mit auffälligen Schwangerschaftsverläufen untersucht. Ebenso wurden Erkrankungen des Kindes, insbesondere chromosomale Aberrationen, betrachtet.

Bei 104 Schwangerschaften mit unauffälligem Karyotyp ergab sich ein Mittelwert für M-CSF im mütterlichen Serum von 214 pg/ml. Bei 14 Fällen mit Trisomie 21 war das M-CSF mit 270 pg/ml signifikant erhöht, während sich bei den nicht lebensfähigen Karyotypen mit Trisomie 13 (183 pg/ml) und Trisomie 18 (143 pg/ml) erniedrigte M-CSF-Spiegel zeigten. Zudem fand sich eine positive Korrelation mit β -hCG. Eine nicht signifikante Tendenz zu niedrigen M-CSF Serumspiegeln konnte bei Schwangerschaften mit intrauteriner Wachstumsrestriktion beobachtet werden. Hierbei gab es zwei Fälle mit auffallend niedrigem M-CSF (49 pg/ml und 73 pg/ml), in welchen die Frauen zusätzliche Pathologien der Plazenta aufwiesen. Ebenso zeigten sich bei Aborten in der Anamnese und bei Nikotinabusus während der Schwangerschaft nicht

signifikant erniedrigte M-CSF Serumkonzentrationen. Bei Frühgeburtlichkeit hingegen war das mütterliche M-CSF tendenziell erhöht.

Es ist bekannt, dass M-CSF eine wichtige Rolle bei der Implantation sowie bei Entwicklung und Erhalt der Plazenta spielt. Die Betrachtung unserer Ergebnisse impliziert weitergehend, dass hierbei eine bestimmte physiologische mütterliche Serumkonzentration von Vorteil ist. Es scheinen sowohl zu niedrige M-CSF Serumspiegel, durch eine verminderte Proliferation und Differenzierung der Trophoblasten sowie eine herabgesetzte Invasivität dieser Zellen, zu einer insuffizienten Plazentation führen zu können, als auch zu hohe M-CSF Spiegel durch eine gesteigerte Apoptose der Trophoblasten. Die hieraus resultierende unzureichende Umwandlung der Spiralarteriolen des Uterus führt zu einer placentaren Hypoxie, welche mit Schwangerschaftserkrankungen wie Präeklampsie, intrauteriner Wachstumsrestriktion, Frühgeburtlichkeit und Aborten assoziiert ist.

Der Zusammenhang zwischen M-CSF Werten im ersten Trimenon und pathologischen Karyotypen ist bislang unklar. Denkbar wäre ein Zusammenhang mit der abnormalen Plazentation bei Schwangerschaften mit Trisomie 21. Diesbezüglich wurden eine verlangsamte Fusion von Trophoblasten zu Synzytiotrophoblasten sowie eine verminderte Produktion und Sekretion von schwangerschaftsspezifischen Hormonen beobachtet. Erhöhte M-CSF Spiegel könnten einen Kompensationsmechanismus darstellen, um die gestörte Funktion des Synzytiotrophoblasten auszugleichen. Inwieweit der pathologische Genotyp der Trophoblasten in Schwangerschaften mit Trisomie 21 bei der Interaktion mit mütterlichen Zellen eine Rolle spielt und ob hierbei eine Maladaptation des Immunsystems von Belangen ist, muss weitergehend experimentell erörtert werden.

Anhang

UK SH

UK-SH, Campus Kiel,
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
Schwangerenambulanz

Haus 24, Arnold-Heller-Straße 3
24105 Kiel

Patientenaufkleber

UNIVERSITÄTSKLINIKUM
Schleswig-Holstein



Campus Kiel
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
Hausanschrift: Haus 24, Arnold-Heller-Str. 3
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c.W. Jonat
Ansprechpartner: Schwangerenambulanz
Telefon: 0431 / 597-2087
Fax: 0431 / 597-2142
Internet: <http://www.unifrauenklinik-kiel.de/>

Sehr geehrte Frau _____,
wir wären Ihnen sehr dankbar, wenn Sie uns im Folgenden ein paar Auskünfte über den Ausgang dieser Schwangerschaft geben würden und den ausgefüllten Fragebogen an uns zurückschicken. Im Voraus herzlichen Dank für Ihre Bemühungen!
Kreuzen Sie bitte die entsprechenden Felder an und notieren Sie Besonderheiten:

Wie ist die Schwangerschaft ausgegangen? ☐ Lebendgeburt ☐ Schwangerschaftsabbruch
☐ Totgeburt ☐ Fehlgeburt

Nachname ihres Kindes: _____

Datum der Entbindung: _____ **Schwangerschaftsalter:** _____ (z.B. 39+2) Wochen

Wo haben Sie geboren? _____

Wie haben Sie geboren? vaginal: ☐ spontan oder ☐ nach Einleitung
☐ normal oder ☐ Forceps/Vakuum
durch Sektio: ☐ geplant oder ☐ Notfall

Geschlecht ihres Kindes: ☐ weiblich ☐ männlich **Ihr Gewicht zur Geburt:** _____ kg

Geburtsgewicht: _____ g **Körperlänge:** _____ cm **Kopfumfang:** _____ cm

Apgar Werte: _____ (nach 1min) / _____ (nach 5min) / _____ (nach 10min) **Nabelschnur-pH:** _____

Gab es Auffälligkeiten bei der Geburt? (z.B. Geburtskomplikationen, Fehlbildungen, ...) ☐ nein ☐ ja

Falls ja, bitte nähere Angaben _____

War Ihr Kind nach der Geburt auf der Intensivstation? ☐ nein ☐ ja

Falls ja, bitte nähere Angaben _____

Wie viele Tage nach der Geburt kam Ihr Baby nach Hause? _____ Tage, am _____

Wurden während der Schwangerschaft folgende Untersuchungen durchgeführt?

☐ Fruchtwasserpunktion ☐ Chorionzottenbiopsie
☐ Nabelschnurpunktion ☐ mütterliche Biochemie (Triple- oder AFP-Test)

Traten während der Schwangerschaft Komplikationen auf? ☐ nein ☐ ja

(z.B. Schwangerschaftshochdruck, Schwangerschaftszucker, Präeklampsie, Eklampsie, HELLP-Syndrom, stationärer Aufenthalt, von der Norm abweichendes Kindswachstum,...)

Falls ja, bitte nähere Angaben _____

Sonstige Bemerkungen: _____

Universitätsklinikum
Schleswig-Holstein
Anstalt des
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:
Prof. Dr. Jens Scholz
Peter Pansegrau
Pflegedirektorin Christa Meyer

Bankverbindungen:
Fördesparkasse Kiel
Kto.-Nr. 100 206, BLZ 210 50 170
Commerzbank AG (vormals Dresdener Bank)
Kto.-Nr. 300 041 200, BLZ 230 800 40



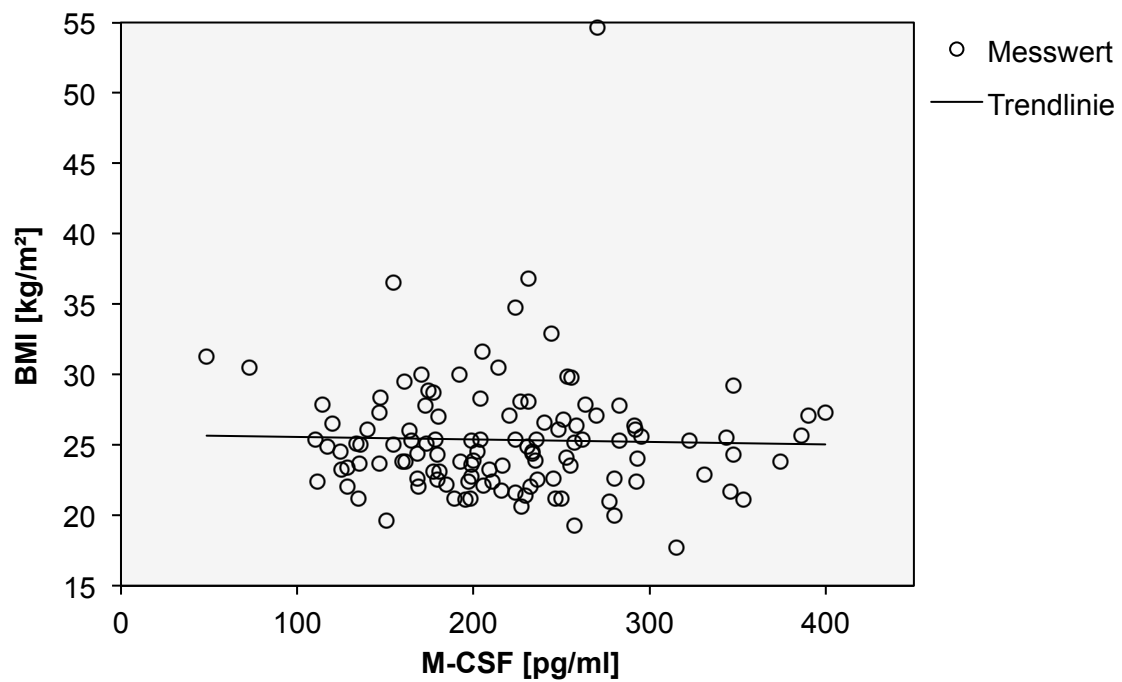


Abbildung 13: Mütterliche M-CSF Serumspiegel in Abhängigkeit vom BMI der Mutter zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings

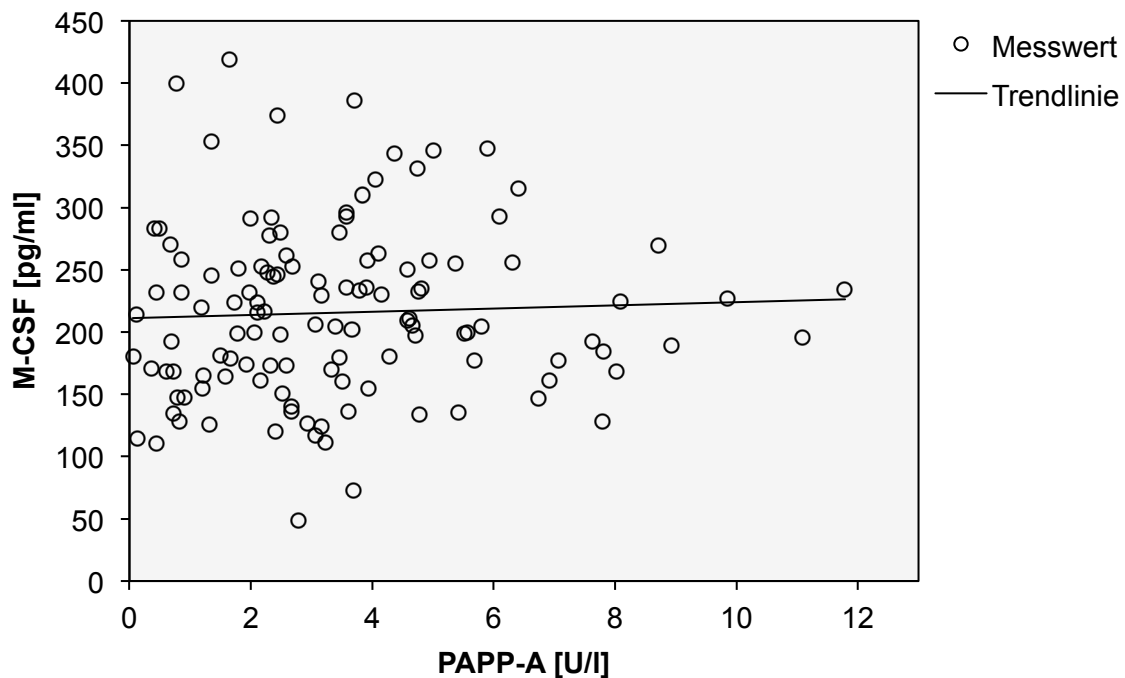


Abbildung 14: Mütterliche M-CSF in Abhängigkeit von PAPP-A im Serum zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings

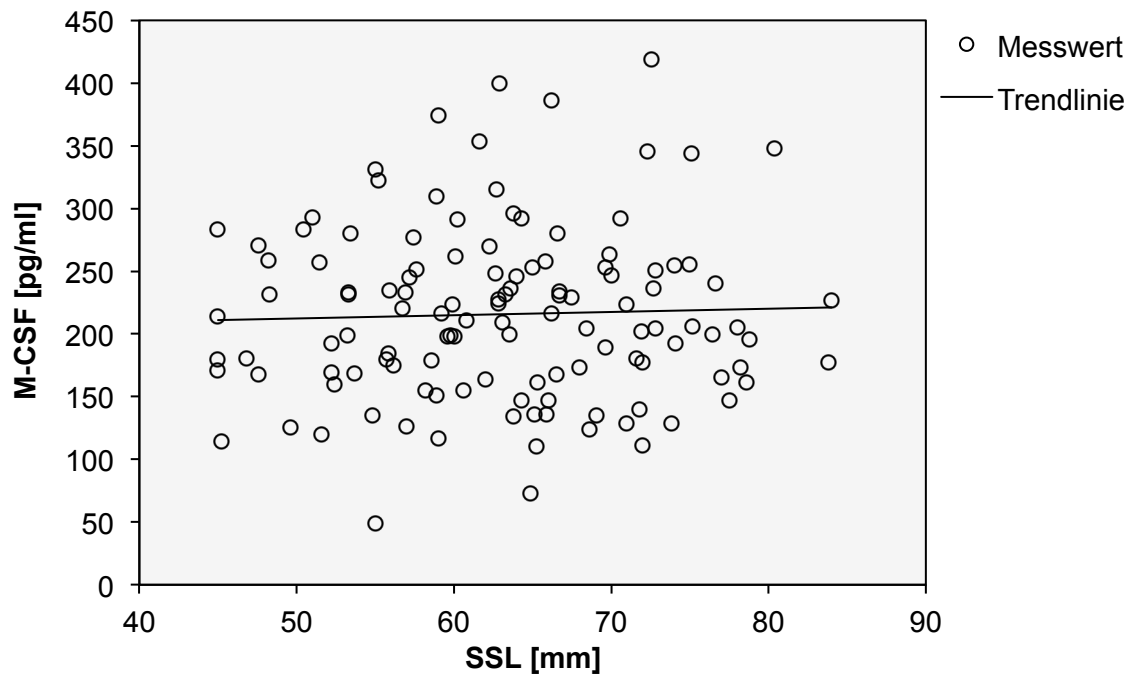


Abbildung 15: Mütterliche M-CSF im mütterlichen Serum in Abhängigkeit von der Scheitel-Steiß-Länge des Feten zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings

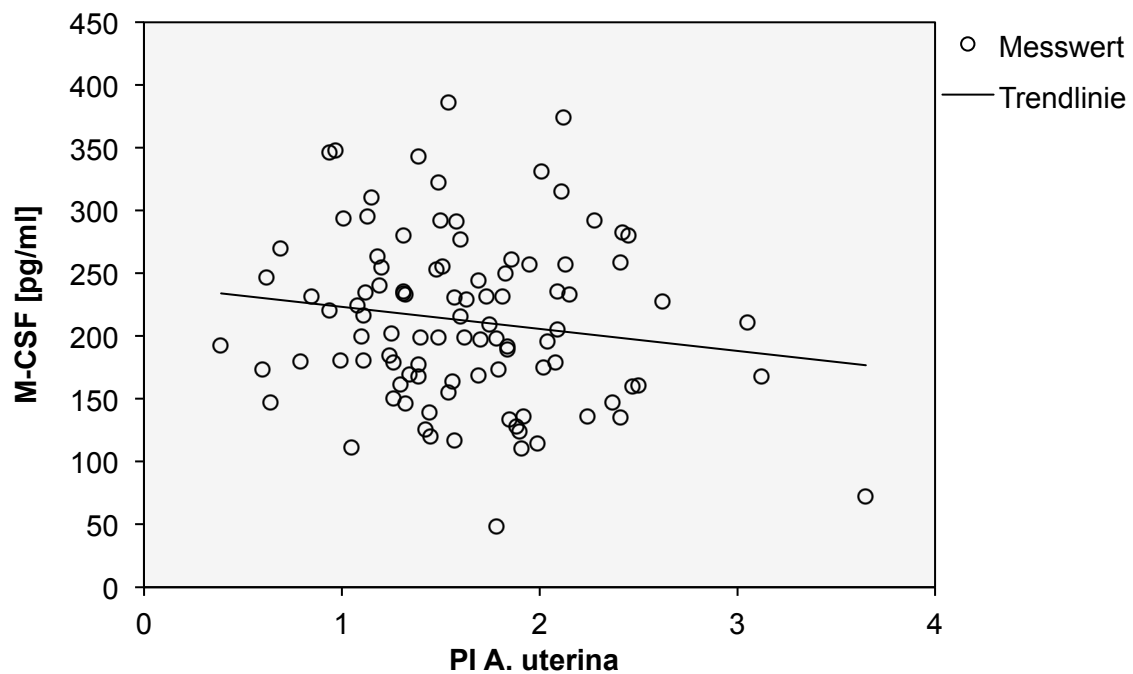


Abbildung 16: Mütterlich M-CSF Serumspegel in Abhängigkeit vom PI der A.uterina zum Zeitpunkt des Ersttrimesterscreenings

Tabelle 2: Auswertungstabelle

		Anzahl	Mittelwert [pg/ml]	Standard- abweichung [pg/ml]	Minimum [pg/ml]	Maximum [pg/ml]
Ersttrimester- screening	11+3-11+6	25	245	84	115	400
	12+0-12+6	66	207	65	49	386
	13+0-13+6	34	218	69	124	419
Parität	Nulliparae	54	223	65	111	386
	Multiparae	70	220	90	49	636
	Keine Angabe	1				
BMI	< 25	61	217	63	111	374
	≥ 25	48	226	74	111	400
	≥ 30	11	184	69	49	270
	Keine Angabe	5				
Nikotin	nein	119	220	72	49	419
	ja	5	173	18	155	199
	Keine Angabe	1				
Aborte	keine Aborte	75	220	68	49	386
	1 Abort	20	201	59	111	348
	≥ 2 Aborte	8	196	63	111	296
	Path. Karyotypen	21				
	Keine Angabe	1				
Karyotypen	unauffällig	104	214	66	111	386
	Trisomie 21	14	270	91	128	419
	Trisomie 18	2	143	40	115	171
	Trisomie 13	2	183	68	135	231
	Triploidie	2	197	24	180	214
	47,XXX	1	126	-	126	126
Schwanger- schaftsverlauf	unauffällig	89	223	69	111	386
	Gestationsdiabetes	3	252	83	199	348
	SIH	2	123	71	73	173
	Singuläre Nabelschnurarterie	3	143	65	73	202
	IUFT	2	192	20	192	206
	Abbrüche	17				
	nicht bekannt	10				
	In einer Schwangerschaft SIH + singuläre Nabelschnurarterie					

Geburtswoche	37+0-42+0	85	216	69	49	390
	32+0-36+6	10	241	95	111	400
	unter 32+0	1	310	-	310	310
	IUFT	2				
	Abbrüche	17				
	Nicht bekannt	10				
Geburtsgewicht	SGA	10	190	74	49	259
	AGA	84	221	72	111	400
	Nicht bekannt	2				

Literaturverzeichnis

1. Rassow J, Deutzmann R, Netzker R. Duale Reihe Biochemie. Online Ressource: Georg Thieme Verlag; 2008.
2. Horn F, Moc I. Biochemie des Menschen. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2012.
3. Tabibzadeh S. Human endometrium: an active site of cytokine production and action. *Endocrine reviews*. 1991;12(3):272-90.
4. Bowen JM, Chamley L, Mitchell MD, Keelan JA. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: biosynthesis, secretion and roles in establishment of pregnancy in women. *Placenta*. 2002;23(4):239-56.
5. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunology today*. 1993;14(7):353-6.
6. Piccinni MP, Scaletti C, Vultaggio A, Maggi E, Romagnani S. Defective production of LIF, M-CSF and Th2-type cytokines by T cells at fetomaternal interface is associated with pregnancy loss. *Journal of reproductive immunology*. 2001;52(1-2):35-43.
7. Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, Mitchell MD. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition. *Placenta*. 2002;23(4):257-73.
8. Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *Journal of reproductive immunology*. 2000;47(2):87-103.
9. Rettenmier CW, Sherr CJ. The mononuclear phagocyte colony-stimulating factor (CSF-1, M-CSF). *Hematology/oncology clinics of North America*. 1989;3(3):479-93.
10. Tushinski RJ, Oliver IT, Guilbert LJ, Tynan PW, Warner JR, Stanley ER. Survival of mononuclear phagocytes depends on a lineage-specific growth factor that the differentiated cells selectively destroy. *Cell*. 1982;28(1):71-81.
11. Mufson RA, Aghajanian J, Wong G, Woodhouse C, Morgan AC. Macrophage colony-stimulating factor enhances monocyte and macrophage antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *Cellular immunology*. 1989;119(1):182-92.
12. Wang M, Friedman H, Djeu JY. Enhancement of human monocyte function against *Candida albicans* by the colony-stimulating factors (CSF): IL-3, granulocyte-macrophage-CSF, and macrophage-CSF. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1989;143(2):671-17.
13. Wang JM, Griffin JD, Rambaldi A, Chen ZG, Mantovani A. Induction of monocyte migration by recombinant macrophage colony-stimulating factor. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1988;141(2):575-9.
14. Becker S, Warren MK, Haskill S. Colony-stimulating factor-induced monocyte survival and differentiation into macrophages in serum-free cultures. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1987;139(11):3703-9.
15. Warren MK, Ralph P. Macrophage growth factor CSF-1 stimulates human monocyte production of interferon, tumor necrosis factor, and colony stimulating activity. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1986;137(7):2281-5.
16. Daiter E, Pampfer S, Yeung YG, Barad D, Stanley ER, Pollard JW. Expression of colony-stimulating factor-1 in the human uterus and placenta. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1992;74(4):850-8.
17. Morris SW, Valentine MB, Shapiro DN, Sublett JE, Deaven LL, Foust JT, et al. Reassignment of the human CSF1 gene to chromosome 1p13-p21. *Blood*. 1991;78(8):2013-20.
18. Shadle PJ, Aldwin L, Nitecki DE, Kothe K. Human macrophage colony-stimulating factor heterogeneity results from alternative mRNA splicing, differential glycosylation, and proteolytic processing. *Journal of cellular biochemistry*. 1989;40(1):91-107.

19. Cerretti DP, Wignall J, Anderson D, Tushinski RJ, Gallis BM, Stya M, et al. Human macrophage-colony stimulating factor: alternative RNA and protein processing from a single gene. *Molecular immunology*. 1988;25(8):761-70.
20. Douglass TG, Driggers L, Zhang JG, Hoa N, Delgado C, Williams CC, et al. Macrophage colony stimulating factor: not just for macrophages anymore! A gateway into complex biologies. *International immunopharmacology*. 2008;8(10):1354-76.
21. Price LK, Choi HU, Rosenberg L, Stanley ER. The predominant form of secreted colony stimulating factor-1 is a proteoglycan. *The Journal of biological chemistry*. 1992;267(4):2190-9.
22. Zhang YH, Yan X, Maier CS, Schimerlik MI, Deinzer ML. Structural comparison of recombinant human macrophage colony stimulating factor beta and a partially reduced derivative using hydrogen deuterium exchange and electrospray ionization mass spectrometry. *Protein science : a publication of the Protein Society*. 2001;10(11):2336-45.
23. Halenbeck R, Kawasaki E, Wrin J, Koths K. RENATURATION AND PURIFICATION OF BIOLOGICALLY-ACTIVE RECOMBINANT HUMAN MACROPHAGE COLONY-STIMULATING FACTOR EXPRESSED IN ESCHERICHIA-COLI. *Bio-Technology*. 1989;7(7):710-5.
24. Rosti V, Bergamaschi G, Lucotti C, Cazzola M. C-fms expression in B-cells and response to M-CSF. *British journal of haematology*. 1993;84(4):755-6.
25. Lo AS, Taylor JR, Farzaneh F, Kemeny DM, Dibb NJ, Maher J. Harnessing the tumour-derived cytokine, CSF-1, to co-stimulate T-cell growth and activation. *Molecular immunology*. 2008;45(5):1276-87.
26. Zapata-Velandia A, Ng SS, Brennan RF, Simonsen NR, Gastanaduy M, Zabaleta J, et al. Association of the T allele of an intronic single nucleotide polymorphism in the colony stimulating factor 1 receptor with Crohn's disease: a case-control study. *Journal of immune based therapies and vaccines*. 2004;2(1):6-14.
27. Pampfer S, Daiter E, Barad D, Pollard JW. Expression of the colony-stimulating factor-1 receptor (c-fms proto-oncogene product) in the human uterus and placenta. *Biology of reproduction*. 1992;46(1):48-57.
28. Varticovski L, Druker B, Morrison D, Cantley L, Roberts T. The colony stimulating factor-1 receptor associates with and activates phosphatidylinositol-3 kinase. *Nature*. 1989;342(6250):699-702.
29. Buscher D, Hipskind RA, Krautwald S, Reimann T, Baccarini M. Ras-dependent and -independent pathways target the mitogen-activated protein kinase network in macrophages. *Molecular and cellular biology*. 1995;15(1):466-75.
30. Baccarini M, Sabatini DM, App H, Rapp UR, Stanley ER. Colony stimulating factor-1 (CSF-1) stimulates temperature dependent phosphorylation and activation of the RAF-1 proto-oncogene product. *The EMBO journal*. 1990;9(11):3649-57.
31. Xu XX, Rock CO, Qiu ZH, Leslie CC, Jackowski S. Regulation of cytosolic phospholipase A2 phosphorylation and eicosanoid production by colony-stimulating factor 1. *The Journal of biological chemistry*. 1994;269(50):31693-700.
32. Junttila I, Bourette RP, Rohrschneider LR, Silvennoinen O. M-CSF induced differentiation of myeloid precursor cells involves activation of PKC-delta and expression of Pkare. *Journal of leukocyte biology*. 2003;73(2):281-8.
33. Pixley FJ, Stanley ER. CSF-1 regulation of the wandering macrophage: complexity in action. *Trends in cell biology*. 2004;14(11):628-38.
34. Lee PS, Wang Y, Dominguez MG, Yeung YG, Murphy MA, Bowtell DD, et al. The Cbl protooncoprotein stimulates CSF-1 receptor multiubiquitination and endocytosis, and attenuates macrophage proliferation. *The EMBO journal*. 1999;18(13):3616-28.
35. Jokhi PP, King A, Boocock C, Loke YW. Secretion of colony stimulating factor-1 by human first trimester placental and decidual cell populations and the effect of this cytokine on trophoblast thymidine uptake in vitro. *Human reproduction (Oxford, England)*. 1995;10(10):2800-7.

36. Kanzaki H, Yui J, Iwai M, Imai K, Kariya M, Hatayama H, et al. The expression and localization of mRNA for colony-stimulating factor (CSF)-1 in human term placenta. *Human reproduction* (Oxford, England). 1992;7(4):563-7.
37. Yong K, Salooja N, Donahue RE, Hegde U, Linch DC. Human macrophage colony-stimulating factor levels are elevated in pregnancy and in immune thrombocytopenia. *Blood*. 1992;80(11):2897-902.
38. Praloran V, Coupey L, Donnard M, Berrada L, Naud MF. Elevation of serum M-CSF concentrations during pregnancy and ovarian hyperstimulation. *British journal of haematology*. 1994;86(3):675-7.
39. Suzu S, Yanai N, Sato-Somoto Y, Yamada M, Kawashima T, Hanamura T, et al. Characterization of macrophage colony-stimulating factor in body fluids by immunoblot analysis. *Blood*. 1991;77(10):2160-5.
40. Saito S, Motoyoshi K, Ichijo M, Saito M, Takaku F. High serum human macrophage colony-stimulating factor level during pregnancy. *International journal of hematology*. 1992;55(3):219-25.
41. Tsakonas DP, Nicolaides KH, Tsakona CP, Worman CP, Goldstone AH. Changes in maternal plasma macrophage-colony stimulating factor levels during normal pregnancy. *Clinical and laboratory haematology*. 1995;17(1):57-9.
42. Hayashi M, Numaguchi M, Ohkubo N, Yaoi Y. Blood macrophage colony-stimulating factor and thrombin-antithrombin III complex concentrations in pregnancy and preeclampsia. *The American journal of the medical sciences*. 1998;315(4):251-7.
43. Ishii E, Masuyama T, Yamaguchi H, Saito S, Irie K, Nomiya M, et al. Production and expression of granulocyte- and macrophage-colony-stimulating factors in newborns: their roles in leukocytosis at birth. *Acta haematologica*. 1995;94(1):23-31.
44. Pollard JW, Bartocci A, Arceci R, Orlofsky A, Ladner MB, Stanley ER. Apparent role of the macrophage growth factor, CSF-1, in placental development. *Nature*. 1987;330(6147):484-6.
45. Wood GW, Hausmann E, Choudhuri R. Relative role of CSF-1, MCP-1/JE, and RANTES in macrophage recruitment during successful pregnancy. *Molecular reproduction and development*. 1997;46(1):62-9.
46. Gruber S. *Gynäkologie und Geburtshilfe*. München: Elsevier GmbH; 2012.
47. Saito S, Nishikawa K, Morii T, Enomoto M, Narita N, Motoyoshi K, et al. Cytokine production by CD16-CD56bright natural killer cells in the human early pregnancy decidua. *International immunology*. 1993;5(5):559-63.
48. Kauma SW, Aukerman SL, Eierman D, Turner T. Colony-stimulating factor-1 and c-fms expression in human endometrial tissues and placenta during the menstrual cycle and early pregnancy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1991;73(4):746-51.
49. Bersinger NA, Noble P, Nicolaides KH. First-trimester maternal serum PAPP-A, SP1 and M-CSF levels in normal and trisomic twin pregnancies. *Prenatal diagnosis*. 2003;23(2):157-62.
50. Cole LA. New discoveries on the biology and detection of human chorionic gonadotropin. *Reproductive biology and endocrinology : RB&E*. 2009;7:8.
51. Arceci RJ, Shanahan F, Stanley ER, Pollard JW. Temporal expression and location of colony-stimulating factor 1 (CSF-1) and its receptor in the female reproductive tract are consistent with CSF-1-regulated placental development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;86(22):8818-22.
52. Saito S, Saito M, Enomoto M, Ito A, Motoyoshi K, Nakagawa T, et al. Human macrophage colony-stimulating factor induces the differentiation of trophoblast. *Growth factors* (Chur, Switzerland). 1993;9(1):11-9.
53. Garcia-Lloret MI, Morrish DW, Wegmann TG, Honore L, Turner AR, Guilbert LJ. Demonstration of functional cytokine-placental interactions: CSF-1 and GM-CSF stimulate human cytotrophoblast differentiation and peptide hormone secretion. *Experimental cell research*. 1994;214(1):46-54.

54. Pijnenborg R, Bland JM, Robertson WB, Brosens I. Uteroplacental arterial changes related to interstitial trophoblast migration in early human pregnancy. *Placenta*. 1983;4(4):397-413.
55. Pijnenborg R, Vercruysse L, Brosens I. Deep placentation. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011;25(3):273-85.
56. Kovalevskaya G, Genbacev O, Fisher SJ, Caceres E, O'Connor JF. Trophoblast origin of hCG isoforms: cytotrophoblasts are the primary source of choriocarcinoma-like hCG. *Molecular and cellular endocrinology*. 2002;194(1-2):147-55.
57. Handschuh K, Guibourdenche J, Tsatsaris V, Guesnon M, Laurendeau I, Evain-Brion D, et al. Human chorionic gonadotropin produced by the invasive trophoblast but not the villous trophoblast promotes cell invasion and is down-regulated by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma. *Endocrinology*. 2007;148(10):5011-9.
58. Shi QJ, Lei ZM, Rao CV, Lin J. Novel role of human chorionic gonadotropin in differentiation of human cytotrophoblasts. *Endocrinology*. 1993;132(3):1387-95.
59. Herr F, Baal N, Reisinger K, Lorenz A, McKinnon T, Preissner KT, et al. HCG in the regulation of placental angiogenesis. Results of an in vitro study. *Placenta*. 2007;28 Suppl A:85-93.
60. Zygmunt M, Herr F, Keller-Schoenwetter S, Kunzi-Rapp K, Munstedt K, Rao CV, et al. Characterization of human chorionic gonadotropin as a novel angiogenic factor. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(11):5290-6.
61. Hayashi M, Ohkura T, Inaba N. Elevation of serum macrophage colony-stimulating factor before the clinical manifestations of preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;189(5):1356-60.
62. Hayashi M, Ohkura T, Inaba N. Increased levels of serum macrophage colony-stimulating factor before the onset of preeclampsia. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et metabolisme*. 2003;35(10):588-92.
63. Keith JC, Jr., Pijnenborg R, Luyten C, Spitz B, Schaub R, Van Assche FA. Maternal serum levels of macrophage colony-stimulating factor are associated with adverse pregnancy outcome. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2000;89(1):19-25.
64. Hayashi M, Ohkura T. Elevated levels of serum macrophage colony-stimulating factor in normotensive pregnancies complicated by intrauterine fetal growth restriction. *Experimental hematology*. 2002;30(5):388-93.
65. Hayashi M, Zhu K, Sagesaka T, Fukasawa I, Inaba N. Elevation of amniotic fluid macrophage colony-stimulating factor in normotensive pregnancies that delivered small-for-gestational-age infants. *American journal of reproductive immunology (New York, NY : 1989)*. 2007;57(6):488-94.
66. Murakawa H, Mori S, Iida S, Atsumi Y, Suzuki M. The relationship between amniotic fluid macrophage colony-stimulating factor and fetal growth. *Journal of reproductive immunology*. 1998;37(2):163-70.
67. Katano K, Matsumoto Y, Ogasawara M, Aoyama T, Ozaki Y, Kajiura S, et al. Low serum M-CSF levels are associated with unexplained recurrent abortion. *American journal of reproductive immunology (New York, NY : 1989)*. 1997;38(1):1-5.
68. Staboulidou I, Galindo A, Maiz N, Karagiannis G, Nicolaides KH. First-trimester uterine artery Doppler and serum pregnancy-associated plasma protein-a in preeclampsia and chromosomal defects. *Fetal diagnosis and therapy*. 2009;25(3):336-9.
69. Frendo JL, Vidaud M, Guibourdenche J, Luton D, Muller F, Bellet D, et al. Defect of villous cytotrophoblast differentiation into syncytiotrophoblast in Down's syndrome. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(10):3700-7.
70. Wright A, Zhou Y, Weier JF, Caceres E, Kapidzic M, Tabata T, et al. Trisomy 21 is associated with variable defects in cytotrophoblast differentiation along the invasive pathway. *American journal of medical genetics Part A*. 2004;130a(4):354-64.
71. Qureshi F, Jacques SM, Johnson MP, Hume RF, Jr., Kramer RL, Yaron Y, et al. Trisomy 21 placentas: histopathological and immunohistochemical findings using proliferating cell nuclear antigen. *Fetal diagnosis and therapy*. 1997;12(4):210-5.

72. Frendo JL, Guibourdenche J, Pidoux G, Vidaud M, Luton D, Giovangrandi Y, et al. Trophoblast production of a weakly bioactive human chorionic gonadotropin in trisomy 21-affected pregnancy. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(2):727-32.
73. Pidoux G, Gerbaud P, Marpeau O, Guibourdenche J, Ferreira F, Badet J, et al. Human placental development is impaired by abnormal human chorionic gonadotropin signaling in trisomy 21 pregnancies. *Endocrinology*. 2007;148(11):5403-13.
74. Wu ZM, Yang H, Li M, Yeh CC, Schatz F, Lockwood CJ, et al. Pro-inflammatory cytokine-stimulated first trimester decidual cells enhance macrophage-induced apoptosis of extravillous trophoblasts. *Placenta*. 2012;33(3):188-94.
75. Loke YW, King A. Immunology of implantation. *Bailliere's best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2000;14(5):827-37.
76. Trundley A, Moffett A. Human uterine leukocytes and pregnancy. *Tissue antigens*. 2004;63(1):1-12.
77. Nagamatsu T, Schust DJ. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2010;17(3):209-18.
78. Hunt JS. Current topic: the role of macrophages in the uterine response to pregnancy. *Placenta*. 1990;11(6):467-75.
79. Hamilton JA. Colony-stimulating factors in inflammation and autoimmunity. *Nature reviews Immunology*. 2008;8(7):533-44.
80. Fleetwood AJ, Lawrence T, Hamilton JA, Cook AD. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (CSF) and macrophage CSF-dependent macrophage phenotypes display differences in cytokine profiles and transcription factor activities: implications for CSF blockade in inflammation. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2007;178(8):5245-52.
81. Willman CL, Stewart CC, Miller V, Yi TL, Tomasi TB. Regulation of MHC class II gene expression in macrophages by hematopoietic colony-stimulating factors (CSF). Induction by granulocyte/macrophage CSF and inhibition by CSF-1. *The Journal of experimental medicine*. 1989;170(5):1559-67.
82. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstetrics and gynecology annual*. 1972;1:177-91.
83. Ball E, Bulmer JN, Ayis S, Lyall F, Robson SC. Late sporadic miscarriage is associated with abnormalities in spiral artery transformation and trophoblast invasion. *The Journal of pathology*. 2006;208(4):535-42.
84. Kim YM, Chaiworapongsa T, Gomez R, Bujold E, Yoon BH, Rotmensch S, et al. Failure of physiologic transformation of the spiral arteries in the placental bed in preterm premature rupture of membranes. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;187(5):1137-42.
85. Straszewski-Chavez SL, Abrahams VM, Mor G. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocrine reviews*. 2005;26(7):877-97.
86. Heazell AE, Buttle HR, Baker PN, Crocker IP. Altered expression of regulators of caspase activity within trophoblast of normal pregnancies and pregnancies complicated by preeclampsia. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2008;15(10):1034-43.
87. Levy R, Smith SD, Yusuf K, Huettner PC, Kraus FT, Sadovsky Y, et al. Trophoblast apoptosis from pregnancies complicated by fetal growth restriction is associated with enhanced p53 expression. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2002;186(5):1056-61.
88. Hempstock J, Jauniaux E, Greenwold N, Burton GJ. The contribution of placental oxidative stress to early pregnancy failure. *Human pathology*. 2003;34(12):1265-75.
89. Huang SJ, Chen CP, Schatz F, Rahman M, Abrahams VM, Lockwood CJ. Pre-eclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. *The Journal of pathology*. 2008;214(3):328-36.
90. Reister F, Frank HG, Kingdom JC, Heyl W, Kaufmann P, Rath W, et al. Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic

- women. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2001;81(8):1143-52.
91. Jauniaux E, Burton GJ. Morphological and biological effects of maternal exposure to tobacco smoke on the feto-placental unit. *Early human development*. 2007;83(11):699-706.
92. Zhu BT, Cai MX, Spink DC, Hussain MM, Busch CM, Ranzini AC, et al. Stimulatory effect of cigarette smoking on the 15 alpha-hydroxylation of estradiol by human term placenta. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2002;71(5):311-24.
93. Petridou E, Panagiotopoulou K, Katsouyanni K, Spanos E, Trichopoulos D. Tobacco smoking, pregnancy estrogens, and birth weight. *Epidemiology (Cambridge, Mass)*. 1990;1(3):247-50.
94. Piasek M, Blanusa M, Kostial K, Laskey JW. Placental cadmium and progesterone concentrations in cigarette smokers. *Reproductive toxicology (Elmsford, NY)*. 2001;15(6):673-81.
95. Asmussen I. Ultrastructure of the villi and fetal capillaries in placentas from smoking and nonsmoking mothers. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1980;87(3):239-45.
96. Demir R, Demir AY, Yinanç M. Structural changes in placental barrier of smoking mother. A quantitative and ultrastructural study. *Pathology, research and practice*. 1994;190(7):656-67.
97. Jauniaux E, Burton GJ. The effect of smoking in pregnancy on early placental morphology. *Obstetrics and gynecology*. 1992;79(5 (Pt 1)):645-848.
98. Genbacev O, Bass KE, Joslin RJ, Fisher SJ. Maternal smoking inhibits early human cytotrophoblast differentiation. *Reproductive toxicology (Elmsford, NY)*. 1995;9(3):245-55.
99. Genbacev O, McMaster MT, Zdravkovic T, Fisher SJ. Disruption of oxygen-regulated responses underlies pathological changes in the placentas of women who smoke or who are passively exposed to smoke during pregnancy. *Reproductive toxicology (Elmsford, NY)*. 2003;17(5):509-18.
100. Nicolaides KH. Turning the pyramid of prenatal care. *Fetal diagnosis and therapy*. 2011;29(3):183-96.
101. Spencer K. Screening for Down syndrome. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation Supplementum*. 2014;74(244):41-7.

Danksagung

Ich danke **Herrn Prof. Dr. med. Nicolai Maass** für die Möglichkeit, diese Arbeit in der Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe durchführen zu können.

Meiner Doktormutter **Frau PD Dr. med. Christel Eckmann-Scholz** danke ich sehr für die freundliche Überlassung dieses Themas und die Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Besonderer Dank gilt meinem Betreuer **Herrn Prof. Dr. rer. nat. Ali Salmassi** für die fachliche Betreuung und die Beratung bei der statistischen Auswertung.

Vielen Dank an **Herrn Prof. Dr. rer. nat. Yahya Açil** aus der Klinik für Mund- Kiefer- und Gesichtschirurgie für die Bereitstellung der Arbeitsmöglichkeiten sowie Durchführung der Messungen.

Ein besonderes Dankeschön geht an **Ines Radtke** und **Frithjof Schwerdt**, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit begleitet und stets unterstützt und motiviert haben.

Vielen herzlichen Dank an alle **Probandinnen** die sich für diese Studie interessiert und daran teilgenommen haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name Christina Wilke
Geburtsdatum 16. April 1988
Geburtsort Hamburg

Schulbildung

08/1998 – 07/2007 Gymnasium Trittau
Abschluss: Abitur
08/1994 – 07/1998 Grundschule Kuddewörde

Ausbildung

09/2007 – 10/2009 Ausbildung zur Rettungsassistentin
ASB Berufsfachschule Hamburg

Studium

16.04.2015 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung: gut
04/2012 – 05/2016 Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
Studium der Humanmedizin, Klinik
26.03.2012 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung: gut
04/2010 – 03/2012 Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen
Studium der Humanmedizin, Vorklinik

Praktisches Jahr

12/2015 – 04/2016 Klinikum Bogenhausen, München, Chirurgie
09/2015 – 12/2015 Spital Schwyz, Schweiz, Innere Medizin
05/2015 – 09/2015 Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin

Dissertation

seit 04/2013 Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
Thema Die Wertigkeit von Makrophagen Kolonie-stimulierendem
Faktor im Rahmen des Ersttrimesterscreenings in der
Schwangerschaft
Doktormutter Frau PD Dr. med. Christel Eckmann-Scholz

Publikation

Eckmann-Scholz C., Wilke C., Acyl Y., Alkatout I., Salmassi A. (2015). Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) in first trimester maternal serum – correlation with pathologic pregnancy outcome. Arch Gynecol Obstet.